

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969

N° 56

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Philippe CHOLLET

Interne des Hôpitaux

né le 3 Juillet 1943 à TULLE

Présentée et soutenue publiquement le 4 Décembre 1969

A PROPOS DU TRANSPORT SANGUIN DES

HORMONES THYROIDIENNES

Président M. MEYNIEL, Professeur,
Membres du Jury : Melle RAMPON, Professeur,
M. PIGNIDE, Professeur,
M. PLAGNE, Maître de Conférences Délégué,
M. MARCHEIX, Maître de Conférences Délégué.

CLERMONT - REPRODUCTION

64, avenue Jean Noellet

63 - AUBIERE (1969)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1969

N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

Philippe CHOLLET

Interne des Hôpitaux

né le 3 Juillet 1943 à TULLE

Présentée et soutenue publiquement le 4 Décembre 1969

A PROPOS DU TRANSPORT SANGUIN DES

HORMONES THYROIDIENNES

Président M. MEYNIEL, Professeur,

**Membres
du Jury :** Melle RAMPON, Professeur,
M. PIGNIDE, Professeur,
M. PLAGNE, Maître de Conférences Délégué,
M. MARCHEIX, Maître de Conférences Délégué.

CLERMONT - REPRODUCTION

64, avenue Jean Noellet

63 - AUBIERE (1969)



UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
M. POMMÉ

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique Obstétricale
BERGER	- Chimie Analytique
BERGERON	- Pathologie Médicale
COULET	- Botanique et Microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie Médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
GRAS	- Clinique Médicale A
JACQUEMET	- Technique Chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie Médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine Légale et Médecine Sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière Médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLOT	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie Chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique médicale infantile

II - Professeurs Titulaires à titre personnel

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.
M. ALFIERI	- Biophysique Médicale

III - Professeurs sans Chaire.

Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
M. CLUZEL	- Bactériologie
M. DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
Mme GAILLARD	- Physique pharmaceutique
M. MENUT	- Pédiatrie et Puériculture
M. PIGNIDE	- Médecine générale

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M.	IV - <u>Maîtres de Conférences Agrégés.</u>
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
Mme POURRAT	- Matière Médicale
M. RAYNAUD	- Pédiatrie
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique.

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orthopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-ptisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie.

VI - Délégués dans les fonctions de Maîtres de Conférences.

MM. BOUCHER	- Physiologie
COUQUELET	- Pharmacie chimique
GENTOU	- Biochimie médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et thérapeutique
Mme PETIT	- Chimie pharmaceutique
MM. PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ — ∴ —

*A la mémoire du Docteur Albert FLEYSSAC,
mon Grand-Père*

A la mémoire de ma Mère,

A ma Famille,

A ma Femme, à ma Fille, à ses Grand-Parents,

A mes Amis.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur MEYNIEL

Doyen de la Faculté

Professeur de Biophysique

Docteur ès Sciences

Chevalier de la Légion d'Honneur

Croix de Guerre T.O.E.

Officier des Palmes Académiques

*Il nous a fait le grand honneur d'accepter
et de juger notre travail.*

*Nous le remercions pour tous les conseils
qu'il a bien voulu nous donner.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre recon-
naissance et de notre profond respect.*

A NOTRE JURY DE THESE

Mademoiselle le Professeur RAMPON

Professeur de Thérapeutique

Médecin des Hôpitaux

*Externe dans son Service, nous avons été marqué
par la richesse de son enseignement, sur le plan
scientifique comme sur le plan humain.*

Nous lui témoignons toute notre gratitude.

Monsieur le Professeur PIGNIDE

Professeur de Médecine Générale

Médecin des Hôpitaux

Chevalier des Palmes Académiques

*Interne dans son Service, nous apprécions pleine-
ment l'ouverture et la profondeur de son ensei-
gnement.*

*Nous le prions de bien vouloir trouver ici l'ex-
pression de notre profond respect.*

Monsieur le Docteur PLAGNE

Maître de Conférences Délégué

(Cancérologie)

*Il nous a toujours accueilli et guidé avec une
égale gentillesse. Ses conseils nous ont été pré-
cieux.*

*Nous le prions de recevoir le témoignage de
notre reconnaissance.*

Monsieur le Docteur MARCHEIX

*Maître de Conférences Délégué
(Médecine Générale).*

*Il a guidé nos premiers pas en Endo-
crinologie.*

*Nous sommes heureux qu'il aie bien
voulu accepter de juger ce travail.*

Au Docteur Bernard BENARD

*Nous avons eu la chance d'être accueilli dans
son Laboratoire. Il nous a conduit tout au
long de l'élaboration de ce travail.*

*Nous lui en sommes très reconnaissant et
le prions de trouver ici l'expression de notre
sincère gratitude.*

Au Docteur Guy LAMARCHE

Professeur titulaire de Physiologie

Directeur du Département de Physiologie

Directeur de la Division des Sciences Fondamentales

*Nous avons été très sensible à la chaleur de son
accueil. Nous le remercions de l'aide qu'il nous
a apportée durant notre séjour.*

Au Docteur Gérard LA SALLE

Vice-Recteur aux Disciplines de la Santé.

Au Docteur Maurice LECLAIR

Professeur titulaire de Médecine

Doyen de la Faculté de Médecine.

Au Docteur Diego BELLABARBA

A Monsieur Jacques BRAULT

A NOS MAITRES

Monsieur le Professeur TERRASSE

Monsieur le Professeur BERGERON

Monsieur le Professeur POROT

Monsieur le Professeur GRAS

Monsieur le Professeur ROUHER

Monsieur le Professeur FOURRIER

Monsieur le Professeur Agrégé RAYNAUD

Monsieur le Docteur BELIN

INTRODUCTION

en forme d'historique

La thyroïde est peut-être la mieux connue des glandes endocrines . Ce sont les observations des cliniciens qui permirent tout d'abord de rapprocher , puis d'établir des rapports entre le fonctionnement du corps thyroïde et le métabolisme de l'iode. C'est ainsi qu'en 1894 EMMINGHAUS remarqua l'effet favorable produit par l'administration de substance thyroïdienne aux porteurs de goître avéré. En 1895, BAUMANN découvrit la présence de 9,3 % d'iode dans l'extrait de glande thyroïde qu'il avait préparé. KOCHER et REVERDIN soulignèrent ensuite les effets de l'ablation du corps thyroïde.

KENDALL s'attacha à isoler le principe actif contenu dans la glande, et découvrit ainsi dès 1915 la thyroxine, principale hormone secrétée par le corps thyroïde. Il l'obtint sous forme cristallisée en 1919.

Sa structure fut élucidée en 1926 par HARINGTON qui en fit la synthèse dès l'année suivante. Il démontra alors que la substance qu'il avait synthétisée avait une activité physiologique qualitative-ment et quantitativement similaire à celle du produit naturel retrouvé dans la glande. L'on pouvait dès lors admettre que c'était bien là l'hormone secrétée par la thyroïde.

Mais on ne connaissait pas de façon précise la forme sous laquelle cette hormone était déversée dans le sang, puis transportée par celui-ci jusqu'aux effecteurs périphériques. On admettait que l'hormone circulante était liée à un polypeptide ou à une protéine ; en effet, elle précipitait avec les protéines sériques, et ne traversait pas les membranes de dialyse (361). C'est la raison pour laquelle on put mettre au point la mesure de l'« iode combiné aux protéines » ou PBI *, et ce fut là la première méthode de mesure de l'hormonémie thyroïdienne.

* PBI : de l'anglais « Protein-Bound Iodine ».

C'est en 1948 que TAUROG et CHAIKOFF (348) vont confirmer les observations initiales de TREVOROW (361) en montrant que si l'on ajoute de la thyroxine marquée au plasma, celle-ci se comporte comme de la thyroxine endogène.

Aucune découverte majeure, malgré l'essai de nombreuses méthodes, ne sera faite jusqu'à l'utilisation de l'électrophorèse de zone. Il faut cependant noter que, sur la base des estimations iode-azote des fractions du plasma humain préparées par la méthode de COHN, SALTER (287) suggéra en 1949 l'existence de protéines spécifiques pour la fixation de la thyroxine, concentrées dans les fractions IV (alpha-globulines) et V (albumine surtout).

D'autre part, en 1950 GROSS, LEBLOND, FRANKLIN et QUASTEL (110) montrent par chromatographie d'extraits plasmatiques par le butanol que la thyroxine est fixée au niveau des bandes protéiques plasmatiques.

Ces prédictions vont se trouver réalisées lors de l'étape décisive dans la connaissance du transport sanguin des hormones thyroïdiennes, qui se situe en 1952 : c'est alors que GORDON, GROSS, O'CONNOR et PITT-RIVERS (101) établissent par l'électrophorèse sur papier du sérum humain auquel on a ajouté de la thyroxine marquée, que celle-ci migre avec les alpha-2-globulines. L'expérience est faite sur tampon véronal à pH 8.6.

Cette découverte est confirmée la même année par plusieurs groupes de chercheurs : LARSON (169), ROBBINS et RALL (269), WINZLER et NOTRICA (378), DEISS et coll. (64), HORST et ROSSLER (131). Tous ces auteurs localisent plus précisément le site de fixation de la thyroxine au niveau de l'aire intermédiaire entre les alpha-1 et les alpha-2 globulines. Cette protéine de migration alpha avec laquelle s'associe la thyroxine pendant l'électrophorèse sur papier à pH 8.6 a reçu depuis le nom d'inter-alpha-globuline, ou TBP *, ou encore mieux TBG **

* de l'anglais « Thyroxine-Binding Protein ».

** de l'anglais « Thyroxine-Binding Globulin »

Pour notre part, nous proposerons de la nommer **TRANSTHYROXINE***

On démontre encore son existence dans les liquides extravasculaires normaux et anormaux (8, 94, 271), ce qui prouve que, comme pour les autres protéines plasmatiques, sa diffusion s'étend aux compartiments intra et extra-vasculaires librement échangeables.

C'est alors que ALBRIGHT (2) et FREINKEL (94) montrent que la thyroxine endogène et la thyroxine synthétique exogène sont en équilibre et peuvent elles aussi s'échanger librement. Bien plus, l'on constate que si la majeure partie du traceur est fixée sur la transthyroxine, lorsque l'on ajoute de la thyroxine stable au mélange sérum et traceur en quantité croissante, des fractions de plus en plus importantes de thyroxine marquée vont s'associer avec l'albumine. Le déplacement inverse peut être obtenu en diminuant la quantité totale de thyroxine, ou en augmentant la quantité disponible de transthyroxine (2).

Cette conception d'un système de fixation de la thyroxine à deux composants, transthyroxine et albumine, allait bientôt se révéler insuffisante. En effet, toutes des études avaient été faites à pH 8.6 sur tampon véronal. Déjà soupçonnée par l'emploi de l'électrophorèse à courant renversé (270), l'existence d'une seconde protéine fixatrice à spécificité supérieure à celle de l'albumine fut bien établie par INGBAR (139) par électrophorèse au même pH 8.6, mais sur tampon TRIS **-maléate. En effet, dans cette technique, plus d'un tiers de la thyroxine migre en avant de l'albumine. Cette pré-albumine a une migration anodique caractéristique supérieure de 20 % environ à celle de la Sérum-Albumine. C'est la raison pour laquelle on lui donne le nom de TBPA (Thyroxine-Binding Pre-Albumin).

* Il convient de noter qu'en bonne règle étymologique, il eut été préférable d'utiliser un terme tel que « Thyrophérine » ou « Thyroxiphérine ». Cependant nous avons préféré le nom de Transthyroxine, car il est de compréhension facile, ne nécessite pas de traduction, et se rapproche davantage de termes consacrés par l'usage, tels que Transcortine ou Transferrine. De plus, l'utilisation d'un nom plus spécifique se justifie du fait de la possibilité de confusion avec d'autres sigles, tels que TBG pour Testosterone-Binding-Globulin».

** Tris (hydroxyméthyl) aminométhane ou THAM.

On vérifie son existence dans plusieurs autres systèmes de tampons alcalins, ainsi que dans le barbital dilué (38, 324, 345). Son absence lorsque l'électrophorèse est conduite en tampon barbital standard tient donc au fait que le barbital entre en compétition avec la thyroxine vis-à-vis des sites de fixation de la pré-albumine. Bien des effets de compétition semblables allaient par la suite être mis en évidence ; nous y reviendrons.

Enfin l'électrophorèse sur gel d'amidon avec tampon borate (7, 260) permet d'identifier TBPA comme la plus rapide des deux bandes protéiques qui migrent en avant de l'albumine.

Ainsi a été démontrée in vitro l'existence dans le sérum sanguin de deux protéines principales, la transthyroxine et la pré-albumine, et d'une protéine accessoire, l'albumine sérique, concourant ensemble au transport de la thyroxine circulante. Pour établir quel est le rôle physiologique exact de chacun de ces éléments, des difficultés vont surgir, notamment en ce qui concerne TBPA. En effet, l'affinité de celle-ci pour la thyroxine se réduit de façon très marquée à pH 7.4 sur tampon phosphate (52, 210, 272). Cependant on observe qu'un certain degré de fixation persiste à ce pH physiologique du sang (130, 142).

Tous ces travaux montrent que la fixation de la thyroxine par les protéines observée sur le sérum dépend étroitement de la méthode employée pour la mettre en évidence, et que l'on peut toujours se demander quelle est la répartition exacte de la thyroxine sur les protéines sériques in vivo. Cependant, on peut penser que la transthyroxine transporte environ les deux tiers de l'hormone circulante, alors que la préalbumine a un rôle quantitativement moins important; quant à l'albumine, en dépit de sa concentration beaucoup plus grande, elle joue normalement un rôle semble-t-il fort réduit.

En outre, l'on a pu décrire d'autres protéines fixatrices de la thyroxine dans le sérum normal, surtout par électrophorèse sur gel d'amidon (38, 136, 352, 360), mais leur existence et leur signification sont actuellement incertaines.

On a aussi rapporté l'existence d'un support de fixation dialysable de la thyroxine (125). Enfin la thyroxine pourrait se fixer très faiblement (135) sur les gamma-globulines du sérum normal, bien que cette fixation se voie avant tout en association avec les anticorps anti-thyroglobuline (249, 274).

Tous ces travaux permettent d'établir la réalité de la liaison entre hormones thyroïdiennes et protéines sériques, qui concerne la quasi-totalité des hormones thyroïdiennes circulantes. Les publications à ce sujet se sont rapidement accumulées depuis 1952 et permettent actuellement de connaître à un degré estimable, quoiqu'encore incomplet, le transport sanguin de la thyroxine.

Il n'en est pas de même en ce qui concerne les étapes ultérieures du métabolisme de la thyroxine, et ce n'est que plus tardivement que l'on a pu apporter certains éléments de réponse aux questions suivantes :

quelle est la forme active des hormones thyroïdiennes dans le sang ?
et par quelles voies cette forme active va-t-elle parvenir jusqu'à son point d'action sur le métabolisme périphérique ?

C'est en 1957 que ROBBINS et RALL (273) introduisent la notion de thyroxine libre, c'est-à-dire non liée aux protéines, et suggèrent qu'elle constitue la forme active de l'hormone. Ils admettent en même temps le concept d'un équilibre multiple entre la thyroxine liée à chacune des protéines plasmatiques qui la fixent, et la thyroxine libre ou non-liée. De plus, ils suggèrent que la concentration de thyroxine libre, bien qu'elle soit très faible, est beaucoup plus directement liée au turn-over et à l'action métabolique de l'hormone que la concentration plasmatique totale que l'on peut mesurer par les techniques chimiques conventionnelles.

Enfin ils calculent, à partir d'un ensemble de données indirectes, que la concentration de thyroxine libre du sérum humain normal est d'environ 10^{-10} à 10^{-11} M. Cet ordre de grandeur sera confirmé par la suite par divers travaux expérimentaux, en particulier par STERLING et HEGEDUS (325) utilisant les méthodes de dialyse qui seront par la suite adoptées par de nombreux auteurs. Les différentes techniques ainsi mises au point diffèrent surtout selon le procédé employé pour séparer l'iode radio-actif inorganique, qui contamine inévitablement toute préparation de thyroxine radio-active, de celle-ci dans le dialysat ou l'ultrafiltrat. Ces méthodes conduisent à estimer la thyroxine libre à un peu moins d'un demi pour mille de la thyroxine circulante totale.

Quant à l'évolution actuelle des idées sur le métabolisme périphérique de l'hormone et son turn-over, on tend à tenir de

plus en plus compte des facteurs périphériques cellulaires (93, 343). On a pu ainsi attribuer à des altérations du métabolisme cellulaire de l'hormone (44, 182) certaines discordances entre thyroxine libre sérique et turn-over de la thyroxine. D'après des expériences utilisant des tranches de tissu, FREINKEL, INGBAR et DOWLING (93) ont démontré l'existence d'un équilibre entre les sites de liaisons intracellulaires et extracellulaires de la thyroxine.

Le mode de fixation de la thyroxine par des composants cellulaires a aussi été étudié par TATA (343), mais il n'a pas encore été possible de définir quelles sont les relations exactes entre la fixation intracellulaire de la thyroxine et son métabolisme.

Ainsi les travaux actuels permettent de s'orienter vers le concept d'un équilibre multiple entre fraction libre, fractions liées aux protéines sériques, et échanges avec les tissus périphériques récepteurs de l'hormone.

Nous n'avons que fort peu parlé des autres hormones thyroïdiennes, et en particulier de la Triiodothyronine. Nous réservant de revenir sur ce sujet, il faut cependant dire d'emblée que ceci est dû au très petit nombre de travaux concernant la distribution et le métabolisme de cette hormone.

Cependant, l'on sait que la Triiodothyronine est fixée avec beaucoup moins d'avidité par les protéines sériques que la thyroxine. Par un phénomène parallèle, ou qui découle du précédent, elle s'associe beaucoup plus rapidement aux éléments cellulaires. Ainsi, toute étude de la distribution périphérique et du métabolisme de la Triiodothyronine doit probablement se faire avant tout par analyse de l'activité cellulaire, plutôt que par étude des capacités de fixation des protéines plasmatiques.

En conclusion à cette brève introduction en forme d'historique, il convient de remarquer que l'étude du transport sanguin des hormones thyroïdiennes constitue la porte d'entrée d'un domaine encore presque totalement inconnu de la physiologie de cette glande endocrine, à savoir le métabolisme périphérique et l'action des composés qu'elle met en circulation dans le sang.

D'autre part, l'évaluation en clinique humaine des éléments de ce transport sanguin paraît désormais indispensable à un bilan complet de la fonction thyroïdienne, qui ne saurait se contenter

d'une simple mesure de l'hormone totale.

Ce sont les raisons essentielles qui nous ont amenées à entreprendre ce travail, dans le but d'évaluer les méthodes existantes de mesure de la thyroxine libre et des capacités de saturation des protéines porteuses ; et, après avoir adopté deux méthodes fiables, de les appliquer à divers états physiologiques et pathologiques de l'humain.

La compréhension de ce qui se passe au niveau du sang nécessite une bonne compréhension de la biosynthèse et du métabolisme intra-glandulaire des hormones thyroïdiennes. C'est la raison pour laquelle nous allons dans le chapitre suivant faire un rappel physiologique de la synthèse hormonale du niveau de la thyroïde.

CHAPITRE I

BIOSYNTHESE ET METABOLISME DES HORMONES THYROIDIENNES.

Ce rappel physiologique traitera de l'hormonosynthèse thyroïdienne et du devenir métabolique des hormones secrétées par la glande thyroïde.

Selon la conception classique en vigueur jusqu'à ces dernières années, la fonction essentielle de la glande thyroïde est de concentrer de l'iode en quantité suffisante pour synthétiser, mettre en réserve et sécréter la quantité nécessaire de thyroxine ou tétraiodothyronine.

Cette conception s'est révélée trop limitative lorsqu'on a découvert récemment que la thyroïde sécrète aussi la thyrocalcitonine, ou calcitonine ; c'est une hormone hypocalcémisante qui agirait en inhibant la résorption osseuse, plutôt qu'en augmentant la fixation calcique au niveau de l'os (55, 91, 122).

Nous envisagerons cependant dans ce travail, de façon plus précise, le cas des hormones iodées.

En effet, l'on sait depuis longtemps que la thyroïde ne sécrète pas une seule, mais bien plusieurs hormones iodées : avant

tout, à côté de la thyroxine, elle met aussi en circulation dans le sang de la 3.5.3.' triiodothyronine ou T_3 ; à côté de ces deux hormones principales, existant de façon permanente dans le sang, elle peut y libérer en quantité beaucoup plus faible et de manière inconstante trois autres composés iodés : la 3. 3.' 5.' triiodothyronine ou T'_3 et deux diiodothyronines dont seule la 3. 3.' DIT ou encore T'_2 présente une certaine activité hormonale, T'_3 et T_2 en étant totalement dépourvues. La formule de ces diverses hormones iodées, qui dérivent de la tyrosine et des iodotyrosines par l'intermédiaire de la thyronine, est rappelée dans le Tableau I.

Rappelons aussi que pendant une vie de 70 ans, la glande thyroïde utilise trois grammes d'iode pour fabriquer cinq grammes de thyroxine. Son rythme de sécrétion est adapté pour maintenir un métabolisme basal normal d'environ 37 calories par heure et par mètre carré de surface corporelle (374).

Ces hormones sont synthétisées à partir de deux matériaux de base :

- un acide aminé, la tyrosine
- un élément inorganique, l'iode.

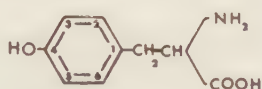
On pense que la tyrosine est toujours en quantité suffisante, puisque la glande thyroïde est, semble-t-il, capable d'en faire la synthèse aussi bien que de la capter dans le sang. Au contraire, l'apport iodé peut varier en ce sens qu'il est avant tout d'origine alimentaire.

L'iodure sanguin est concentré par les cellules thyroïdiennes, puis oxydé grâce à une peroxydase, sans doute à l'état d'ion Iodinium. Cet ion est substitué aux atomes d'hydrogène en ortho de la fonction phénol des radicaux tyrosyl de la thyroglobuline pour former des radicaux de 3. iodotyrosine (MIT) et de 3 - 5 diiodotyrosine (DIT). La condensation oxydative de deux radicaux DIT donne naissance à un radical thyroxine ou T_4 , alors que la condensation d'un radical DIT avec un radical MIT donne un radical triiodothyronine ou T_3 .

Ces radicaux sont libérés de la molécule de thyroglobuline par des enzymes protéolytiques, et deviennent ainsi autant de molécules d'hormone active qui vont être libérées dans le sang.

- HORMONES THYROIDIENNES -

I - SQUELETTE ET NUMÉRATION

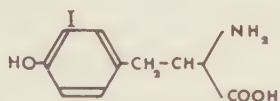


A - TYROSINE

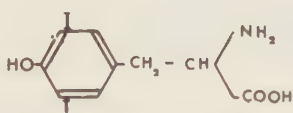


B - THYRONINE

II - COMPOSÉS IODÉS À UN SEUL NOYAU

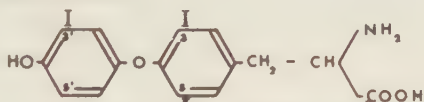


A - MONOIODOTYROSINE (MIT)

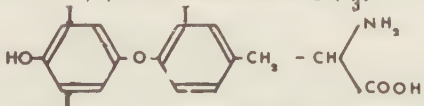


B - DIIODOTYROSINE (DIT)

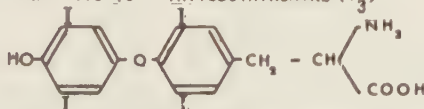
III - COMPOSÉS IODÉS A DEUX NOYAUX



A - 3,5,3'- TRIIODOTHYRONINE (T₃)



B - 3,3',5'- TRIIODOTHYRONINE (T₃')



C - 3,5,3',5'- TÉTRAIODOTHYRONINE (THYROXINE OU T₄)

Au contraire, les radicaux MIT et DIT qui peuvent être libérés par la même protéolyse sont rapidement déshalogénés, et leurs constituants sont réutilisés pour la biosynthèse hormonale.

Il va sans dire que ce schéma très succinct n'est qu'un pâle reflet de la complexité réelle du mécanisme, que nous allons maintenant envisager étape par étape, avec plus de détail.

I - L'IODE ET SON ARRIVEE A LA THYROIDE

L'iode corporel total atteindrait 20 à 50 milligrammes (288). Une grande partie est comprise dans des organes à partir desquels les échanges se font lentement avec le milieu intérieur : ce sont la peau, le squelette et les muscles, qui contiendraient respectivement un dixième, un dix-septième et la moitié de l'iode total. La lenteur de ces échanges fait notamment qu'on ne peut les retrouver dans l'étude du métabolisme de l'Iode 131, dont la demi-vie est seulement de 8 jours: Le pool extrathyroïdien de l'iode rapidement échangeable équivaut à 1 à 2 mg d'iode, alors que la thyroïde en renferme pour sa part environ 8 mg.

Le première étape du métabolisme de l'iode est représentée par son absorption intestinale à partir des aliments et de l'eau de boisson, sous forme principalement d'iodure de sodium ou de potassium (20). L'alimentation habituelle en apporte 100 à 150 microgrammes par jour. Cependant la thyroxine et la triiodothyronine sont actives par voie buccale, car elles peuvent traverser sans modification la barrière intestinale. Il en est d'ailleurs de même pour les corps iodés qui servent en radiologie à visualiser le tractus biliaire.

L'iode minéral est ensuite véhiculé par le sang, où sa concentration est généralement inférieure à 1 microgramme pour 100 ml (84, 262). Cet iode sous forme ionique semble se distribuer dans un espace équivalent au double du volume des liquides extracellulaires, ou à environ 35 % du poids du corps.

Son épuration se fait :

- avant tout par le rein, pour les deux tiers de l'iode minéral

plasmatique. Les tubules rénaux réabsorbent 97 % de l'iode filtré et le remettent en circulation dans le sang. Au total la clearance rénale de l'iode est de 35 ml par minute ; elle paraît indépendante de l'apport iodé, au moins chez certains animaux.

- et par la thyroïde, pour un tiers de l'iode minéral plasmatique. La clearance thyroïdienne de l'iode est, au contraire de celle du rein, essentiellement variable, car elle dépend de l'état fonctionnel de la glande. Elle est habituellement comprise entre 10 et 35 ml/minute.

- quant aux glandes gastriques, salivaires et mammaires, ainsi que les plexus choroïdes et le placenta, ce sont des organes qui ont aussi la propriété de concentrer l'iode (347). Cependant, ils n'épurent ou ne fixent qu'une infime partie de l'iode circulant, et leur rôle semble donc quantitativement négligeable. Il en est de même pour les pertes d'iodure par la sueur et les selles, très faibles elles aussi : en effet, en l'absence de thyroïde, 98 % de l'iode radio-actif est excrété dans l'urine.

II - L'ENTREE ET LA CONCENTRATION DES IODURES DANS LA THYROÏDE.

C'est ce que l'on désigne plus habituellement sous le nom de «Pompe à Iodure», ou encore de «Trapping». En effet, la glande thyroïde a la faculté de capter et de concentrer l'iode du sang; de telle façon que la concentration thyroïdienne des iodures est d'au moins 20 à 25 fois celle du sang circulant (111).

Cependant, cette concentration est éminemment variable selon les circonstances : alors qu'elle tend vers l'unité lorsque la « pompe à iodure » est débordée par un taux très élevé d'iode sanguin, elle peut aussi décupler, et même davantage, en cas d'hyperfonctionnement glandulaire avec hyperplasie.

Le fait essentiel reste que la quantité d'iode fixée est à peu près constante dans l'état d'euthyroïdie, bien que le taux d'iode plasmatique, lié à l'apport alimentaire, puisse varier assez largement.

Quant au mécanisme intime du trapping, il semble assez complexe. Dans une revue récente, WOLFF (382) a montré

qu'il associe des facteurs enzymatiques à des phénomènes électriques de gradient de potentiel. On peut ainsi énoncer les facteurs qui en font un mécanisme actif de transport :

- 1) l'iodure est concentré à la fois contre un gradient chimique et contre un gradient électrique; en effet, WOODBURY (386) a montré par implantation de micro-électrodes que lumière folliculaire et espace extra-cellulaire sont au même potentiel, alors qu'il y a une grande différence entre les potentiels intra-cellulaires au niveau des membranes basales et apicales. Il existe ainsi un gradient de l'ordre de 50 millivolts entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule,
- 2) l'iodure concentré par la thyroïde est sous forme libre,
- 3) le mécanisme de concentration est proprement cellulaire, puisque l'organisation folliculaire n'est pas nécessaire (357); en effet, des cellules thyroïdiennes isolées par trypsinisation continuent à concentrer l'iodure. D'autre part, l'intégrité de la cellule est nécessaire (212, 213),
- 4) le système peut être saturé par des quantités élevées d'iodure,
- 5) il peut être inhibé par certains anions, dont la taille et la configuration électronique sont analogues à celles de l'iodure ; c'est le cas notamment des ions SCN^- , BF_4^- , NO_3^- , et surtout de l'ion perchlorate ClO_4^- . Ces anions exercent une inhibition compétitive à l'entrée de l'iodure dans la thyroïde, et peuvent même l'en chasser, tout au moins lorsqu'il est sous forme libre,
- 6) il demande des concentrations optimales en ions Na^+ et K^+ (381). Le transport de ces ions nécessite la présence d'un enzyme, l'ATP ase. Ainsi s'explique que le trapping soit bloqué par les glucosides cardiaques (384), tels l'ouabaine et la digitaline, qui inhibent l'action de cet enzyme,
- 7) il se fait au niveau de la membrane basale de la cellule, comme l'ont montré les expériences de radio-autographie thyroïdienne (16, 212, 213).

Il reste cependant que le mécanisme intime du transfert de l'iode n'est pas clairement établi. Cependant, l'action facilitatrice de la Thyréo-stimuline ou TSH à son niveau pourrait s'expliquer par le fait qu'elle agirait directement en favorisant une complexation des ions iodure avec les phospholipides de la paroi cellulaire.

L'iodure ainsi capté à partir du sang va former un

premier pool, de petite dimension, et à renouvellement rapide. Dynamiquement en effet, l'iode radio-actif concentré par la thyroïde est rapidement transféré dans la lumière folliculaire pour participer aux étapes ultérieures de la synthèse hormonale (16, 212, 213, 246). Cependant une bonne partie en est rapidement remise en circulation (215).

Ce pool s'oppose à celui, plus vaste, de l'iode provenant de la désiodation des iodotyrosines libérées par la thyroglobuline. Ce second pool a une vitesse de renouvellement moins grande ; contrairement au premier, il contient de l'iode sous forme liée, et ne peut être déchargé dans le sang par les ions perchlorate.

Pour être complets, il nous faut signaler que certains aspects de pompe à iode peuvent être retrouvés dans d'autres organes. C'est ainsi que la salive, le suc gastrique et le lait ont des concentrations en iode s'élevant à 10 à 50 fois le taux plasmatique. Cependant la possibilité d'organification de l'iodure, la formation d'hormones actives, et la sensibilité à l'action de la TSH sont des caractéristiques exclusivement thyroïdiennes.

III - L'OXYDATION DES IODURES.

Il s'agit là d'une étape dont le mécanisme n'est pas encore pleinement éclairci. Il est généralement admis, par analogie avec les réactions expérimentales faites in vitro, que l'iodure capté par la cellule thyroïdienne doit être d'abord fortement oxydé en iode moléculaire avant de se fixer sur les groupements tyrosine. Or le potentiel de réduction de la réaction



est de +0,535 V., soit un des plus importants que l'on puisse retrouver en biochimie (347); en effet, parmi les oxydants courants que l'on connaît en biologie, seuls H_2O_2 et O_2 sont plus puissants que I_2 à pH 7.

D'où l'hypothèse soutenue par plusieurs auteurs, voulant que le peroxyde d'hydrogène joue dans cette réaction le rôle de donneur d'oxygène (d'accepteur d'électrons) en présence d'une peroxydase (157).

Or dès 1944, DEMPSEY (65) a pu mettre en évidence la présence d'une peroxydase dans le tissu thyroïdien grâce à des méthodes histochimiques. Cette découverte a ensuite été confirmée par d'autres auteurs (160, 275, 369).

Bien plus, en utilisant un système générateur en continu de peroxyde d'hydrogène tel que le système glucose-glucose oxydase, ALEXANDER (4) met en évidence une activité peroxydasique dans des homogénats de thyroïde et de sous-maxillaire de rat ; il obtient ainsi l'iodation de la tyrosine qu'il a ajoutée au milieu. KLEBANOFF (157) a des résultats analogues en utilisant comme générateur d' H_2O_2 un système de nucléotide à flavine avec des ions manganèse, ainsi que ces mêmes ions manganèse avec un système générateur de DPNH ou de TPNH.

Tous ces travaux viennent en confirmation de l'hypothèse énoncée plus haut. Ainsi, ce haut degré d'oxydation serait obtenu par des diastases telles que la peroxydase à groupement prosthétique de ferri-protoporphyrine IX décrite par ALEXANDER et CORCORAN (5), ou encore la cytochrome-oxydase.

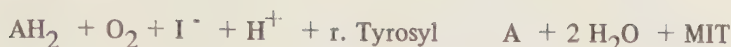
Le système à activité peroxydasique a même été isolé et partiellement purifié par plusieurs auteurs (108, 392); tout particulièrement HOSOYA et coll. ont isolé et purifié une peroxydase hémostrotéique typique de P. Moléculaire 104,000 (132 à 134).

Il subsiste cependant des incertitudes quant au nombre de diastases et à leur spécificité, ainsi qu'au lieu et au mécanisme exact des oxydations. Tout se complique quand on envisage en détail la chaîne des réactions métaboliques. Quelle est in vivo la source d' H_2O_2 dans la thyroïde ?

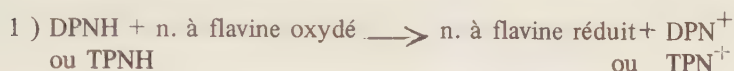
Si l'on appelle AH_2 la substance hypothétique qui va réduire l'oxygène moléculaire pour le transformer en H_2O_2 , la chaîne des réactions peut s'écrire (332) :



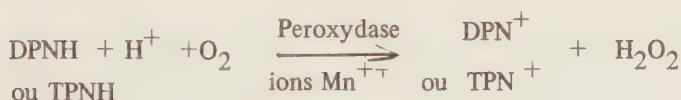
Soit au total :



Mais il reste à déterminer quelle est la nature exacte de cette substance AH_2 . Dans ce but, DE GROOT et DAVIS (107) et SCHUSSLER et INGBAR (298) ont établi un premier schéma, en se basant sur le fait que l'iodation de la tyrosine est renforcée par addition de DPNH ou de TPNH, ainsi que de nucléotides à flavine (107, 356), ce qui permet d'écrire la réaction :



On peut opposer à ce schéma celui qu'à établi KLEBANOFF (157, 158) après étude de l'activité DPNH oxydase de la thyroïde, ainsi que d'autres peroxydases. Selon cet auteur, la peroxydase purifiée peut être sa propre source d' H_2O_2 dans une réaction d'oxydation en aérobiose du DPNH ou du TPNH catalysée par les ions Mn^{++} , qui peut s'énoncer ainsi :



En faveur d'un système générateur à TPNH, les travaux de IYER et QUASTEL qui montrent (150) que les polynucléaires pendant la phagocytose produisent une quantité considérable d' H_2O_2 par un système à TPNH. De même, on a suspecté la formation d' H_2O_2 dans l'hydroxylation enzymatique de la phénylalanine en tyrosine par les hépatocytes (154, 155).

Enfin il semble que les mécanismes d'oxydation sont liés au métabolisme glucidique intra-thyroïdien, et en particulier au cycle des pentoses. Alors que les inhibiteurs des groupements sulfhydriques se révèlent capables d'inhiber l'oxydation du glucose, inversement ces mêmes inhibiteurs du glutathion G-SH stimulent de façon importante l'organification de l'Iode (392).

Quelle que soit l'ampleur des problèmes qui restent à résoudre, quel que soit le mécanisme intime de l'oxydation de l'iode, il est certain que celui-ci, dès qu'il est activé, va se fixer en position

3 ou 5 d'un noyau tyrosyl proche. Dissocier comme nous le faisons les étapes du trapping de l'iode, de son oxydation, et de sa fixation sur la tyrosine, que nous allons maintenant envisager, ne doit pas faire perdre de vue que l'enchaînement de ces diverses réactions est très rapide, et que ces trois étapes sont parcourues dans un temps très court. Même si pour nous cette cascade de réactions en série n'est encore qu'une chaîne disloquée dont on a déjà retrouvé un certain nombre de maillons sans avoir encore pu déceler la manière dont ils s'emboîtent exactement.

IV - SYNTHÈSE DE LA THYROGLOBULINE ET FORMATION DES IODOTYROSINES.

Il est établi que la tyrosine est incorporée à la molécule de thyroglobuline préalablement à toute fixation d'iode.

Cette protéine est élaborée sous la forme de pré-thyroglobuline par les ribosomes de la cellule thyroïdienne (217).

Les expériences de NADLER et coll. (216, 217) par autoradiographie après injection de leucine tritiée chez le rat, explicitent la synthèse de la pré-thyroglobuline au niveau de l'ergastoplasme. L'incorporation de la leucine marquée est très rapide : après 10 minutes la radioactivité commence à apparaître dans des composés qui sédimement à 8 et 12 unités Svedberg ; après 20 minutes l'incorporation de la leucine à ces molécules S8 et S12 est importante. Au bout de 40 minutes, la radioactivité a baissé en S8 ; elle est élevée en S12 et commence à apparaître dans des composés sédimentant à S 18-19 ce qui est la constante de sédimentation de la thyroglobuline. Ainsi sa synthèse se fait-elle par la constitution de sous-unités initiales qui s'unissent entre elles par la suite (304) ; de telle façon que la leucine tritiée est passée en S 19 en quasi-totalité au bout de quelques heures. La molécule ainsi formée migre dans le Golgi et est transférée par les citernes jusqu'à la lumière du follicule.

NADLER et coll., WOLLMANN et WODINSKI (385), ainsi que GROSS et STEIN (320), ont démontré que la fixation de l'iode sur la thyroglobuline se fait dans la colloïde vésiculaire, et non dans la cellule folliculaire elle-même. Cette iodation des groupements tyrosine de la protéine est sous l'action directe de la TSH. On ne sait pas encore si celle-ci agit par l'intermédiaire d'un enzyme spécial catalysant le transfert de l'iode oxydé au substrat, à savoir la tyrosine-iodase décrite par FAWCETT (77).

KLEBANOFF et coll. étudiant ce problème (157) pensent qu'un seul enzyme pourrait suffire à catalyser à la fois oxydation et fixation de l'iode sur la tyrosine. En effet, des préparations purifiées de myéloperoxydase et de lactoperoxydase peuvent catalyser l'iodation de la tyrosine en présence d'un système générateur d' H_2O_2 .

On peut cependant leur reprocher de ne pas avoir établi si une telle réaction aboutit à la formation avant tout de MIT ou de DIT. Ceci est un point capital, puisque la formation de MIT se fait aisément dans les systèmes in vitro. Donc un système extra-corporel qui conduit à la formation presque exclusive de MIT ne constitue pas un modèle valable des mécanismes thyroïdiens d'oxydation (347).

Il convient de formuler les mêmes réserves pour les systèmes qui exigent des concentrations d'iode non-physiologiques, par exemple 10^{-3} M, pour que se forme une quantité appréciable de DIT (347).

En résumé, le mécanisme d'iodation résulte en la fixation rapide de l'iode en ortho de l'hydroxyle, aboutissant à la monoiodotyrosine ou MIT, et à la diiodotyrosine ou DIT. Il semble que la MIT soit le précurseur de la DIT.

C'est également à ce niveau que semblent agir la plupart des médicaments antithyroïdiens ; en effet, la fixation de l'iode est bloquée par le thiocyanate, les thiourées, et les mercaptoimidazoles.

Enfin l'iodation est un phénomène indépendant de la synthèse de la thyroglobuline ou de la synthèse protéique en général (179, 181, 305). Cependant la protéine subit des modifications, et en particulier sa constante de sédimentation progresse au fur et à mesure de la fixation de l'iode (228).

V - LES REACTIONS DE CONDENSATION .

Ces réactions s'effectuent elles aussi à l'intérieur même de la molécule de thyroglobuline. La condensation de deux molécules d'iodotyrosines avec perte d'un reste d'alanine aboutit à la formation d'une molécule de thyronine. Ainsi un radical MIT s'unirait à un radical DIT pour former la 3, 5, 3' Triiodothyronine ou T_3 , et deux radicaux DIT formeraient la 3, 5, 3', 5' Tétraiodothyronine ou Thyroxine.

Cette hypothèse a été formulée dès 1927 par HARINGTON et BARGER (115); elle est prouvée *in vitro* en 1939 par MUTZENBECHER. En effet, cet auteur fait incuber en milieu alcalin une solution pure de DIT, et obtient en quelques jours la formation d'une petite quantité de thyroxine. Cette réaction très lente peut être accélérée par l'eau oxygénée ou par l'iode.

La véracité de cette hypothèse a été démontrée *in vivo* grâce à l'emploi de l'iode radio-actif. Elle est également valable pour la formation de T_3 ; la confirmation de ce qu'elle provient de la condensation d'une molécule de MIT et d'une molécule de DIT, et non de la désiodation partielle de la thyroxine, a été apportée par PITT-RIVERS (245).

Quant à la condensation de deux molécules de MIT, ou d'une molécule de DIT et de MIT pour donner la 3, 3', 5' Triiodothyronine ou T_3 , elle semble pouvoir se produire en très faible quantité dans la thyroïde, sans que pour cela ces produits soient mis en circulation dans le sang.

Mais depuis les travaux de HILLMANN en 1956 (121), la théorie de Harington n'est pas la seule admise. En effet, cet auteur a montré que la thyroxine peut être formée par condensation de la DIT avec un corps très voisin, l'acide 3-5 diiodo 4 hydroxyphényl pyruvique ou DIHPPA ; ce fait est par la suite confirmé à pH 7 (192). Ce pré-curseur se combine également à la thyroglobuline pour former de la T_4 (353).

De la même façon, on a pu démontrer la formation de T_3 par condensation de la DIT avec l'acide monoiodohydroxyphényl pyruvique ou MIHPPA (307).

Mais il n'est pas certain que ces corps représentent *in vivo* une étape dans la formation des hormones ; en effet, LISSITZKY a retrouvé la DIHPPA dans la thyroïde du rat après injection d'Iode ¹³¹, mais en très faible quantité (moins de 0,01 % de l'iode thyroïdien).

Comme aux autres niveaux de la synthèse hormonale, on retrouve la même action facilitatrice de la TSH. Son action se fait probablement par l'intermédiaire d'enzymes, en particulier un enzyme couplant, postulé, mais non encore isolé, bien que la condensation de la DIT puisse avoir lieu en l'absence de toute diastase. Il pourrait également s'agir d'une modification de la structure tertiaire de la thyroglobuline. A ce niveau également se retrouvent les actions inhibitrices

de la thiourée, des sulfonamides, du thiouracile et de l'iode à fortes doses.

VI - STOCKAGE ET LIBERATION SANGUINE DES HORMONES.

La forme de stockage des produits hormonaux est la thyroglobuline de colloïde ou thyroglobuline 2. A côté de MIT, DIT, T_3 et T_4 , elle contient d'autres composés iodés, mais en faible quantité. Excepté dans des conditions d'hyperfonction non physiologiques, tous les composés sont stockés avant d'être libérés dans le sang veineux au fur et à mesure des besoins. Cette libération des acides aminés que sont somme toute T_3 et T_4 se fait sous l'influence d'enzymes protéolytiques (384) dont l'action est directement influencée par la TSH. Certains de ces enzymes sont sans spécificité, comme la protéase ; d'autres sont plus spécifiques de la glande thyroïde, comme la cathepsine et la peptidase.

Les travaux de NADLER, WETZEL et coll. (214, 372), ont permis de décrire la séquence morphologique de la libération hormonale. La première étape, quasi instantanée après l'injection de TSH, est l'inclusion de petites gouttelettes de colloïde par des sortes de tentacules protoplasmiques émanés du pôle apical de la cellule. Cette pinocytose est si rapide que les gouttelettes de colloïde commencent à apparaître dans le cytoplasme de la cellule vésiculaire 5 minutes après l'injection de TSH, et celui-ci en est littéralement truffé après 15 minutes. Ces gouttelettes migrent vers le pôle basal de la cellule et semblent se fondre en chemin avec des granules denses, habituellement localisés à la partie basale de la cellule.

Ce n'est qu'après la fusion avec ces granules, qui sont des lysosomes, que les gouttelettes présentent les réactions histochemiques des phosphatases acides et estérases. La cathepsine thyroïdienne est libérée par les enzymes des lysosomes tels que la phosphatase acide et la β -glycuronidase (21, 120, 259). Protéases et peptidases thyroïdiennes ont un pH optimal acide.

L'étape finale de libération des iodothyronines dans le courant sanguin n'est pas encore éclaircie ; en particulier on n'a pu encore préciser l'importance du rôle de la circulation lymphatique thyroïdienne (58). En tout cas le sang veineux contient des concentrations plus élevées de T_3 et T_4 que le sang artériel, et le gradient est

accru par la stimulation avec la TSH. C'est avant tout de la T_4 qui est libérée dans le sang veineux (191, 350), mais aussi une petite proportion de T_3 , qui peut cependant augmenter en pourcentage après TSH.

Au contraire, les iodotyrosines libérées par hydrolyse de la thyroglobuline ne passent qu'en inconstante et infime proportion dans le sang ; en effet MIT et DIT libérées sont désiodées dans la cellule thyroïdienne par un enzyme microsomial dont le coenzyme est le NADPH : c'est la désiodase ou déshalogénase, dont l'importance est capitale (317).

En effet, l'iode ainsi libéré est récupéré sur place et forme le second pool d'iodure intrathyroïdien, qui représente 98 % de l'iode minéral intrathyroïdien.

Cet enzyme est inactif vis-à-vis des thyronines. L'action de la TSH sur la désiodase pourrait être telle que de l'iode inorganique pourrait « déborder » de la cellule thyroïdienne dans le sang (357, 386).

Il faut en outre noter que les effets de la TSH sur l'hydrolyse de la colloïde et l'activation de la désiodase sont remarquablement précoces et spécifiques ; ils s'opposent ainsi aux autres effets de la TSH qui sont beaucoup plus lents.

On estime la sécrétion journalière de T_4 entre 77 et 92 μg par jour dans les conditions normales (374).

QUELQUES DONNEES RECENTES SUR LE METABOLISME IODE

L'ensemble de ces connaissances concernant le métabolisme thyroïdien, acquises grâce aux techniques isotopiques, comporte cependant quelques réserves et laisse subsister des incertitudes.

Le schéma de HARINGTON, postulant le couplage oxydatif des iodotyrosines pour former les iodothyronines avec élimination d'un reste d'alanine, conduit logiquement à admettre que la radioactivité spécifique des iodothyrosines marquées doit être inférieure à celle des iodothyronines marquées ; or, l'analyse par activation a montré qu'il n'en est rien, et les restes d'alanine n'ont par ailleurs, jamais été isolés.

D'autre part, dans le sang circulant, la théorie habituelle admet la présence d'iode organique sous la seule forme de T_4 et T_3

Or il est possible de mettre en évidence une autre fraction organique constituée par des protéines ou des peptides iodés (35, 36).

De plus, la T4 nécessite un temps de latence de neuf heures environ avant de manifester son action, alors que la plupart des autres hormones ont une action physiologique très rapide, débutant parfois quelques minutes après l'injection (insuline, vaso-pressine, ocytocine ...). Toutefois une part au moins de cet effet peut être attribuée à l'importance de sa fraction liée aux protéines des liquides extra-cellulaires, voire même aux protéines intracellulaires.

Enfin, pour expliquer le passage des iodothyronines à travers les cellules thyroïdiennes, passage que des molécules plus petites, comme les iodotyrosines, ne peuvent réaliser, il est nécessaire de faire intervenir l'existence d'un enzyme spécifique, la tyrosine-désiodase, respectant les iodothyronines selon un mécanisme qui demeure obscur.

Les travaux de WERNER réalisés par extraction suivie de chromatographie avec de l'iode stable 127 ont permis de montrer la présence de quantités d'iode importantes dans le plasma pour des Rf correspondant à ceux de la MIT et de la DIT. Malgré les controverses suscitées par ce travail, les auteurs pensent que ces substances ne sont pas détectées avec l'iode radioactif, en raison d'une période biologique trop courte et d'une désiodation rapide qui suit leur formation et leur sécrétion par la thyroïde.

Un certain nombre de faits expérimentaux récents établis à l'aide des techniques radioisotopiques contribuent à étayer l'hypothèse de WERNER. En effet, BLANQUET, VRIGNAUD, CROIZET, BRANDRICK et MEYNIEL (35) ont constaté, sur le rat, que la courbe de radioactivité organique du plasma présentait au cours des premières heures suivant l'injection un maximum très marqué. Ce fait a également été retrouvé chez l'homme. L'amplitude du phénomène est importante, et le maximum se situe entre la 3ème et la 4ème heure après l'injection de la dose traceuse. Ce «phénomène rapide », qui s'estompe vers la sixième heure, semble correspondre à la libération dans le sang circulant de substances organiques iodées nouvelles d'origine thyroïdienne ; en effet, ce phénomène peut être artificiellement accru par l'injection d'ocytocine ou de vasopressine. Enfin, BLANQUET, MEYNIEL, BERGER et CROIZET (36, 37) ont montré qu'il existait dans le sang des substances organiques iodées de nature peptidique.

Le plus important de ces peptides iodés, de Rf égal

à 0,18 , dont la présence avait été détectée dans la thyroïde par LISITZKY, GREGOIRE et LIMOZIN, est presque toujours retrouvé dans le sang circulant, surtout dans les premières heures après l'injection d'iodo-radioactif.

Ce composé peptidique, très résistant aux hydrolyses enzymatiques classiques, libère (par hydrolyse par HCl 6 N à l'autoclave à 100° pendant quelques heures) plusieurs fragments organiques iodés dont les Rf sont supérieurs à 0,60. Après une hydrolyse poussée pendant 36 heures dans les mêmes conditions, on trouve seulement une substance de Rf = 0,50, correspondant à la DIT, accompagnée de traces d'iodures.

Parmi les fragments iodés de Rf supérieur à 0,60, libérés pendant les premières heures de l'hydrolyse, BLANQUET , MEYNIEL, BERGER et CROIZET (36, 37) ont identifié le tyrosyl-tyrosine-tétraiodé (TT₄I). Ce produit, dont la synthèse partielle a été réalisée par BERGER et coll., s'est avéré posséder des propriétés spécifiques d'une action hormonale thyroxi-mimétique : en particulier, il a été prouvé expérimentalement que le TT₄I avait la même action que la T₄ sur la vitesse de métamorphose des têtards de « Rana Dalmatina » pour des concentrations identiques de 10⁻⁶ mg/l. (204).

Le TT₄I entraîne d'autre part un accroissement de la consommation d'oxygène du rat, comparable à celui provoqué par la thyroxine, mais dont la manifestation est plus rapide , plus fugace, et sans temps de latence (195). L'étude de ce composé marqué au ¹²⁵I a permis de préciser sa cinétique d'épuration sanguine, et de montrer l'existence d'une importante et rapide déshalogénéation dans l'organisme (198, 199). Le TT₄-¹²⁵I est déshalogéné électivement au niveau du foie ; sa période est de 60 minutes. Il apparaît donc comme un dipeptide iodé à métabolisme rapide, d'action thyroxi-mimétique nette et fugace, subissant une déshalogénéation importante au niveau du foie.

Ainsi, il est logique de penser qu'à côté d'un pool iodé organique à métabolisme lent, atteignant son maximum entre la 24ème et la 48ème heure, et constitué essentiellement par les iodothyronines, il existe un pool iodé organique à métabolisme rapide formé de peptides, parmi lesquels l'un d'entre eux, le TT₄I, est doté de propriétés hormonales thyroxi-mimétiques. BLANQUET, MEYNIEL, BERGER et CROIZET (36, 37) émettent l'hypothèse que la MIT et la DIT ne

sont pas détectables dans le sang, car leur présence dans la thyroïde n'a pu être démontrée qu'après hydrolyse enzymatique ou chimique : ils suggèrent que la thyroglobuline se coupe, au moins partiellement, en peptides directement libérés dans le sang, leur chaîne comportant un complexe hormonal de structure voisine de celle de la thyroxine.

Depuis longtemps, les études chimiques et chromatographiques laissaient un certain nombre de points inexplicables. Ainsi les valeurs relatives à l'iode organique, déterminées par précipitation à l'acide trichloracétique (P.B.I.) et celles obtenues par l'extraction butanolique (B.E.I.) faisaient apparaître une certaine divergence que l'on expliquait mal dans les conditions physiologiques.

Plus récemment, la méthode de séparation sur résines décrite par BLANQUET, MEYNIEL et SAVOIE (33) a permis de caractériser une fraction organique (F₂) différente des iodothyronines (F₃).

VII - TRANSPORT SANGUIN ET DESTINEE DE L'HORMONE

Nous envisagerons en détail au chapitre II les diverses composantes du transport sanguin des hormones thyroïdiennes. Nous ne donnerons donc ici que quelques détails sur l'iodémie organique et le turn-over des composés hormonaux.

La thyroxine représente au moins 95 % de l'hormone circulante totale ; en effet on ne retrouve T₃ dans le sérum qu'en quantité très faible, inférieure à 5 %, et même de façon inconstante. La T₄ est liée dans sa quasi-totalité à trois protéines sanguines : dans l'ordre d'affinité décroissante, Transthyroxine ou TBG, Pré-albumine ou TBPA, et albumine. Le fait essentiel, qui paraît désormais bien établi, est que la thyroxine liée est physiologiquement inactive ; seule la thyroxine libre peut diffuser dans les cellules à travers les membranes. La forme libre et la forme liée sont en équilibre , les échanges pouvant se faire dans les deux sens.

L'iodémie totale, qui est d'environ 6 à 10 μg / 100 ml, se décompose en deux fractions principales :

- iode inorganique ou iodure, de l'ordre du microgramme, destiné à la synthèse hormonale ou à l'élimination ;

- iode organique (5 à 8 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), qui comprend lui-même une fraction non-hormonale constituée d'iodotyrosines (MIT et DIT) en quantité assurément minime, mais diversement appréciée (244); et une fraction hormonale qui correspond à l'iode extractible par le butanol ou BEI.

Cette fraction, composée de T_3 et surtout de T_4 liées aux protéines, correspond à au moins 90 % de l'iodémie totale.

Le caractère qui permet d'opposer l'iode hormonal circulant aux autres hormones, telles que l'épinéphrine, la vasopressine ou les corticostéroïdes par exemple, est le fait que les hormones iodées totales, telles qu'on peut les mesurer par le PBI, ont un taux remarquablement constant sur de très longues périodes (326). Cet immobilisme n'est qu'apparent, puisque les études dynamiques montrent que la thyroxine quitte en permanence le sang circulant pour se distribuer à l'ensemble du pool extra-thyroïdien.

En effet, l'étude du devenir de la T_4 marquée à l'Iode 131 après injection à l'homme montre que la radioactivité sérique chute en deux à trois jours. La pente de la courbe ainsi obtenue reflète le turnover de l'hormone ; ce dernier varie d'ailleurs dans de larges proportions selon l'état fonctionnel de la glande. On tire graphiquement de la courbe la notion de demi-vie biologique de la thyroxine, qui est de 6,1 jours (327), alors que celle de la T_3 , vraisemblablement du fait de sa moindre liaison aux protéines sériques, n'est que de 2,4 jours.

Un fait plus troublant, et encore inexpliqué, tiré de ces expériences, est que le volume de distribution corporel de T_4 est de 13,4 % du poids du corps alors que celui de T_3 est beaucoup plus important et de l'ordre de 76 % (268).

Ces travaux permettent en outre d'apprécier par calcul de dilution isotopique le pool extra-thyroïdien de l'iode organique (326). Ce pool a un ordre de grandeur de 500 microgrammes, alors que la dégradation journalière est de 50 à 65 μg d'iode hormonal, ce qui correspond à 100 microgrammes de thyroxine par jour.

VIII - PENETRATION INTRA-CELLULAIRE DES HORMONES.

Si l'on admet que l'on peut considérer le système des protéines sanguines vectrices de T_4 à la fois comme un réservoir et un

transporteur d'hormones interposé entre la glande et les tissus périphériques, il reste à envisager deux chapitres importants de la physiologie de l'hormone avant son arrivée à son point d'impact cellulaire.

Le premier est le transfert de l'hormone du système protéique plasmatique au système fixateur des liquides interstitiels. On sait en effet que les iodothyronines des compartiments extravasculaires sont combinées à protéines qui ont des points communs, mais aussi des différences, avec leurs homologues du sang. On les désigne sous le nom général de TBP interstitielles, ou encore ITBP.

C'est ainsi qu'on a étudié jusqu'à présent, quoique la façon encore fort incomplète, et avant tout chez l'animal, les liquides extravasculaires suivants : la lymphe et le liquide céphalo-rachidien (8, 271), le liquide synovial (223), le liquide amniotique et même le liquide d'ascite (280, 291). Tous ces liquides ont en commun, le fait de contenir des protéines fixatrices qui sont les mêmes que celles du sang (TBG et TBPA). Cependant la composition du liquide et les proportions relatives des protéines varient grandement d'un liquide à l'autre et d'une espèce à l'autre. Chez un même animal, la concentration d'une protéine donnée, mesurée par sa capacité maximale de fixation pour T_4 , peut être très différente de celle du sérum ; c'est ainsi que le liquide céphalo-rachidien renferme TBPA en proportion plus élevée que le sérum (8, 271), et que le liquide d'ascite de souris peut présenter un pourcentage de répartition de T_4 sur les protéines inversé par rapport à celui du sérum (280, 291).

Au total, les systèmes protéiques interstitiels paraissent varier, au moins dans leur composition, par rapport au système plasmatique.

Leur rôle paraît néanmoins fort important, et leur pouvoir fixateur égale ou dépasse celui du plasma. C'est par exemple le cas pour la lymphe du chien (289) ; ainsi que pour le liquide péri-cardique, pourtant relativement pauvre en protéines, qui présente une fixation de T_4 presque aussi importante que le plasma (280).

L'étape ultime est le passage de l'hormone thyroïdienne du système vecteur interstitiel à l'intérieur même de la cellule où va s'exercer son action. Bien que les données dont on dispose à ce sujet soient encore très limitées, l'on sait qu'au niveau cellulaire encore, existe un système protéique de fixation de l'hormone, auquel on donne le nom général de TBP cellulaire, ou CTBP. Les principaux travaux (187,

340) ont consisté en essais d'identification et de purification des CTBP du muscle squelettique. TRITSCH (363) a plus récemment mis en évidence une CTBP particulière au niveau du myocarde.

Cependant l'affinité de ces CTBP pour la thyroxine semble faible. De plus, l'interprétation de ces résultats souffre de restrictions dues à des facteurs techniques : tout d'abord, l'inévitable contamination des extraits tissulaires par le sérum ; ensuite, la migration électrophorétique de ces CTBP supposées est la même que celle de T_4 libre placée en milieu non protéique (75).

Le problème est donc loin d'être résolu. Cependant, le schéma global de fonctionnement de ces divers systèmes fixateurs paraît établi ; il semble en effet certain que les hormones passent de système en système, ces derniers étant reliés entre eux par des réactions d'équilibre réversible (291) régissant le transfert de la forme libre de l'hormone de l'un à l'autre, selon le processus suivant :



Des études plus récentes ont montré que la pénétration intracellulaire semble se faire de façon préférentielle au niveau de certains organes (48, 102, 117, 231). C'est ainsi que, chez l'homme comme chez l'animal, les cellules hépatiques paraissent contenir des quantités substantielles de thyroxine qui seraient rapidement échangeables avec le plasma ; elles pourraient atteindre 30 % de la thyroxine corporelle totale de l'homme. Il en est de même pour le rein, qui pourrait lui aussi constituer un organe de réserve de T_4 intracellulaire. Comme d'autre part ces organes sont ceux où se produit de façon privilégiée le catabolisme des hormones, ceci suggère que le contenu intracellulaire d'hormone échangeable puisse constituer un élément déterminant du turn-over de la thyroxine. Il a été, de la même façon, postulé que le contenu de thyroxine des cellules hypothalamiques ou pituitaires puisse être l'élément déclenchant de la sécrétion de TSH .

Il reste donc à évaluer l'importance respective de la fixation intracellulaire de T_4 et du taux de thyroxine libre du plasma sur le déterminisme du turn-over de la thyroxine. Cependant le rôle des protéines sanguines peut être déterminant ; en effet, une augmentation de la concentration des protéines fixatrices inhibe la fixation intracellulaire de T_4 si elle est suffisamment importante. D'autre part,

les corps utilisés pour démontrer une augmentation de la fixation intra hépatique de T_4 , tels que le phénobarbital et la diphénylhydantoïne, sont bien connus pour leur action inhibitrice de la fixation de T_4 sur la TBG ou la TBPA. De nouveaux travaux sont donc nécessaires pour éclaircir ce point capital de cinétique de la fonction thyroïdienne.

IX - CATABOLISME DES HORMONES.

Il n'a été étudié que de façon incomplète encore au niveau du muscle. Par contre, on a pu en préciser beaucoup mieux les modalités au niveau du cerveau, et surtout du foie et du rein qui appartiennent à ce catabolisme certaines particularités.

Il existe trois modes différents de catabolisme des hormones thyroïdiennes :

- le premier est une déshalogénéation de la molécule hormonale, sous l'influence d'une désiodase spécifique (340), qui serait probablement différente de la désiodase thyroïdienne. Les travaux concernant cet enzyme n'ont pas permis d'établir encore s'il est microsomial (316, 387, 388), mitochondrial (3, 174, 390), ou encore dans la fraction cellulaire soluble (341), ni de préciser s'il est thermostable (315, 316) ou thermolabile (175, 341).

L'iode ainsi libéré repasse dans le sang, et peut être capté à nouveau par la thyroïde. Cependant, il filtre au moins en partie dans l'urine, surtout si la déshalogénéation est rénale. C'est ainsi que chez l'animal entier, T_3 et T_4 peuvent être désiodés dans une proportion variant entre 30 et 70 %, quantité qui est retrouvée dans l'urine sous forme d'iode après administration d'hormone marquée (1, 156).

La désiodation peut être observée dans des homogénats de foie (315, 316, 373), sur des tranches de rein (72), ou encore au niveau du muscle (174, 175, 341). Les atomes d'iode du noyau β sont enlevés en premier (247, 248, 254, 315, 387, 388). L'opération pourrait se poursuivre jusqu'à désiodation totale, l'aboutissement étant la thyronine (176), et même la tyrosine (277).

- la deuxième voie est constituée par une désamination suivie de décarboxylation oxydative (197, 354). Elle aboutit à la formation de corps tri- ou tétra-iodés de structure voisine de celle de T_4 ou de T_3 (196, 278, 279), et ceci au niveau du foie, du rein, du cerveau, sans

doute dans les mitochondries (168, 344, 354, 355). La désamination fait apparaître des corps de la série pyruvique, par exemple l'acide 3-5-3' Triiodothyropyruvique à partir de T_3 . Puis la décarboxylation du radical pyruvique donne naissance à des corps de la série acétique. Dans l'exemple précédent, l'acide 3,5,3' Triiodothyropyruvique devient l'acide 3,5,3' Triiodothyroacétique, plus connu sous le sigle TRIAC. De même, T_4 est transformée en acide tétraiodothyroacétique ou TETRAC. La désiodation reste d'ailleurs possible à n'importe quel stade.

A côté de ces composés classiques, bien d'autres corps peuvent être formés. Ils constituent la classe des « homologues », qui ont tous des propriétés physiologiques semblables à celles des hormones thyroïdiennes, mais à des degrés très divers. Leur degré d'activité dépend de leur structure, qui est d'ailleurs mal connue dans de nombreux cas. Il est d'autant plus difficile d'apprécier la parenté entre structure et fonction, qu'une modification de structure peut entraîner des effets métaboliques variables selon les conditions d'expérimentation.

- la troisième voie est constituée par la formation de dérivés glycu-ro-conjugués (346, 349) et sulfoconjugués (87, 105, 281) sous l'influence d'un enzyme microsomial hépatique (149). La conjugaison se fait au niveau de l'hydroxyle phénolique, et ne semble pas se faire en concurrence avec celle de la bilirubine. C'est ainsi que 60 microgrammes de T_4 sont excrétés chaque jour dans la bile ; bien que la formation de ces dérivés ne soit pas exclusivement hépatique (30, 85, 86), et qu'elle puisse même se faire dans des tranches de rein (73).

Le composé glycu-ro-conjugué est hydrolysé dans le tube digestif sous l'action d'une β -glycuronidase bactérienne, ou encore résorbé par la muqueuse intestinale. C'est ainsi que s'établit un cycle entéro-hépatique des hormones thyroïdiennes (1).

Il semble établi que la conjugaison de T_4 n'est pas un simple processus de détoxication. En effet, elle a lieu quand l'hormonémie est normale ; elle ne facilite pas l'excrétion des dérivés hormonaux, et ses produits sont partiellement hydrolysés dans l'organisme. La clearance de la thyroxine dans la bile est influencée par sa concentration sanguine, et en particulier par la thyroxine libre, qui l'augmente (208). Il en est de même lorsque la fixation intra-cellulaire hépatique de T_4 augmente sous l'influence de l'administration de phéno-barbital (233). Enfin, certains auteurs ont pu dire que les dérivés sulfo et glycu-ro-conjugués des iodothyronines se comportent en quelque

sorte comme des hormones-retard endogènes.

En conclusion, il faut insister sur le fait que désamination, décarboxylation et conjugaison sont des processus cataboliques, et non des transformations conduisant à la formation de composés actifs. Seule la désiodation, qui conduit à la formation de T_3 , pourrait constituer une voie métabolique physiologique, mais elle ne dépasse pas 5 % du total des processus de désiodation.

CHAPITRE II

TRANSPORT SANGUIN DES HORMONES THYROIDIENNES

A - INTRODUCTION .

Nous avons vu que les hormones thyroïdiennes, la L-thyroxine et la 3,5,3' triiodothyronine, sont transportées par le sang aux tissus périphériques récepteurs sous forme de combinaison réversible avec certaines protéines plasmatiques bien définies.

Ces hormones ont pour particularité chimique d'être insolubles dans l'eau. On peut donc imaginer d'emblée que la fonction de cette combinaison soit de permettre la solubilisation de T_3 et de T_4 dans le plasma sanguin. Mais les chercheurs se sont rapidement aperçus que les protéines fixatrices ont de plus un rôle régulateur du métabolisme hormonal périphérique.

En cela leur rôle se rapproche de celui de la Transcortine, qui est la protéine spécifique du transport sanguin de divers stéroïdes et en particulier du cortisol.

Contrairement à ce qui se passe pour les hormones hydrosolubles et en particulier polypeptidiques, dont la demi-vie est très courte, et limitée à quelques minutes, la combinaison des hormones thyroïdiennes et des stéroïdes aux protéines a pour effet primordial de constituer un pool sanguin d'hormone immédiatement utilisable, mais

aussi d'allonger la demi-vie de l'hormone en ralentissant son turn-over périphérique.

Si l'on compare la fraction liée, différente pour chaque hormone, avec la demi-vie biologique de celle-ci, l'on constate que plus la fraction liée est importante, et plus la demi-vie de l'hormone est longue.

C'est ainsi que T_4 est liée de façon quasi-totale aux protéines (99.95 %) alors que T_3 est moins liée (99.5 %) et que le cortisol est lié seulement à 95 % environ. Or la demi-vie de T_4 est de beaucoup supérieure à celle de T_3 , elle-même beaucoup plus longue que celle du cortisol.

Ceci découle du fait que seule la fraction libre semble pouvoir être métabolisée. Il existe ainsi une relation directe entre le pourcentage d'hormone libre et le pourcentage d'hormone utilisé à la périphérie. Ainsi la combinaison aux protéines semble d'emblée avoir une signification biologique bien précise : la forme liée est en équilibre direct avec la forme libre, qui est seule active à la périphérie, et seule à être métabolisée.

B - Nature et Identification des Protéines Fixatrices :

Dans le but d'identifier la ou les protéines responsables de la fixation de la thyroxine, les premiers travaux ont fait appel aux méthodes de relargage par les sels (261, 287, 309, 348, 376). Leurs résultats étaient entachés d'inexactitude, par exemple le fait que la fraction albumine sérique contient la quasi-totalité de l'iode sanguin. Cependant la fraction IV de COHN, et en particulier ses sous-fractions IV_9 et IV_6 , constituent un bon matériel de départ pour les purifications ultérieures (94, 287, 348).

En 1952, GORDON et coll. (101) furent les premiers à utiliser l'électrophorèse de zone, qui devait devenir par la suite une des méthodes de base dans l'étude des protéines fixatrices de T_4 . Cette méthode conduisait à l'identification en tampon barbital de pH 8.6 de la protéine fixatrice majeure, la TBG des auteurs anglo-saxons, que nous avons proposé de nommer Transthyroxine. Avec cette protéine

intermédiaire entre les α_1 et les α_2 globulines (131, 269) paraissait migrer 90 % de la thyroxine rajoutée comme traceur, le reste étant avec la Sérum-Albumine. Les mêmes résultats étaient obtenus avec de la thyroxine radio-active synthétisée in vivo. De plus, lorsque l'on augmentait la concentration de T_4 dans le milieu, une plus grande partie de cette T_4 se liait à l'albumine, ce qui traduisait la saturation, au moins partielle, de la Transthyroxine.

Puis ce fut la technique d'électrophorèse en courant inversé de ROBBINS (263), amélioration importante qui allait permettre de calculer la saturation de la TBG, en même temps qu'elle montrait que la fixation obtenue par certains auteurs sur les β et γ globulines, surtout aux fortes concentrations de T_4 , relevait elle aussi d'un artéfact (93, 126, 270).

La seconde protéine fixatrice spécifique de la thyroxine, déjà soupçonnée en tampon barbital de pH 8.6 (270), allait être mise en évidence de façon nette par l'électrophorèse sur papier dans des tampons autres que le barbital (24, 139, 345), ou encore sur gel d'amidon (7, 38, 260) ou même par électrophorèse en flot continu lorsque le barbital est suffisamment dilué (14, 82). Il apparaissait ainsi qu'en tampon TRIS à pH 8.6 plus d'un tiers de la thyroxine migrait en avant de l'albumine avec une protéine à laquelle on a donné le nom de TBPA. Par la suite, on prouve que son absence de rôle fixateur en tampon barbital est due à un effet inhibiteur du barbital lui-même (40, 52, 140, 142, 343). Quant à la fixation de T_4 sur TBPA aux pH physiologiques voisins de 7.4, elle a été mise en doute (52, 210), mais paraît néanmoins avoir lieu (130, 142).

Cependant le rôle exact de cette protéine reste encore à évaluer de façon plus précise. Un article récent de WÖBER et INGBAR (380) est consacré à la mesure de la TBPA par immunoprécipitation. La TBPA du sérum est précipitée par un antigène spécifique anti-TBPA que l'on ajoute au sérum. Cette méthode a pour résultat d'éliminer une fraction du traceur moins importante que celle qui se combine à TBPA dans les méthodes électrophorétiques classiques ; ainsi ce ne sont plus 30 %, mais seulement 15 % du traceur qui sont précipités avec TBPA. La confirmation de ces résultats prouverait que le rôle de TBPA a probablement été surestimé jusqu'ici, d'autant plus que ceci corrobore les résultats retrouvés en pathologie humaine et sur lesquels nous reviendrons.

D'autre part, TBPA ne fixe pas du tout la triiodothyronine ; celle-ci est liée de façon beaucoup plus lâche que T_4 à la Transthyroxine et à l'albumine (139, 140, 142, 240). La capacité maximale de la Transthyroxine pour la T_3 pourrait même être inférieure de 40 % à celle de cette même protéine pour la T_4 .

Enfin, si Transthyroxine et TBPA semblent fixer spécifiquement T_4 et T_3 , la spécificité n'est cependant pas absolue, et certains dérivés ou certaines molécules de structure voisine de celle de T_4 peuvent entrer en compétition avec les hormones pour se fixer sur ces protéines.

On a pu obtenir parfois une fixation de T_4 sur les gamma-globulines. Elle semble survenir de façon pathologique, avant tout en présence d'anticorps anti-thyroglobuline (249, 274); cependant il pourrait exister une très faible interaction même en sérum normal (135).

Ainsi, il existe au moins trois protéines sériques sur lesquelles se fixe la T_4 : à savoir TBG, TBPA, et la sérum-albumine, par l'emploi de l'électrophorèse de zone.

Les autres techniques, plus modernes, d'électrophorèse de zone selon des processus très variés, n'ont pas permis d'apporter de précisions supplémentaires importantes, et n'ont ainsi pu supplanter l'électrophorèse sur papier qui reste la méthode fondamentale.

C'est ainsi que l'électrophorèse en gel d'amidon (38, 136, 352, 360) a retrouvé d'autres protéines fixatrices, sans que leur rôle aie pu être établi par ailleurs. On a rapporté aussi l'existence d'un matériel fixateur capable de traverser les membranes de dialyse (125).

L'immunoélectrophorèse (10, 123, 180, 202) donne des résultats un peu surprenants en montrant la fixation de T_4 sur une variété d'arcs protéiques. L'origine de ce phénomène reste inconnue : cependant un lavage prolongé avec des tampons alcalins détache la T_4 de ces arcs (12).

Les méthodes de chromatographie sur colonne n'ont pas permis non plus de résultats décisifs. Les colonnes de poudre de cellulose, la filtration sur gel d'agar ou de polyacrylamide, montrent simplement que le rapport $\frac{T_4}{\text{protéine}}$ est plus élevé dans la zone de

TBPA et TBG. Bien plus, la liaison de T_4 aux protéines, qui est non-covalente mais cependant précipitable, n'est pas conservable sur les gels de Séphadex et les gels de Dextran qui dissocient les complexes hormones-protéines (74, 178, 314). Le DEAE-cellulose serait ainsi le meilleur procédé pour séparer les protéines fixatrices (280).

C - Purification des protéines fixatrices et leurs propriétés.

1) La Transthyroxine ou TBG.

La purification de la plus spécifique des protéines fixatrices n'a progressé que lentement, car sa concentration sanguine est basse, et de l'ordre de 1 à 3 mg pour 100 ml, dans un milieu de teneur élevée en protéines comme l'est le plasma.

En 1957 INGBAR et coll. (146) entreprennent la purification de TBG par chromatographie sur résine échangeuse d'ions DO-WEX, à partir de la fraction protéique IV-6 préparée par la méthode de COHN. Ils isolent ainsi une fraction glycoprotéique à laquelle ils trouvent une constante de sédimentation de $s_{20,w}^0 = 4.1 \times 10^{-13}$ sec. Mais la méthode utilisée a l'inconvénient d'aboutir à une perte du pouvoir fixateur.

D'autres auteurs obtiennent des préparations partiellement purifiées de Transthyroxine : c'est le cas de TATA (342), qui obtient une protéine ressemblant à une α_1 glycoprotéine avec un poids moléculaire de 40 à 50,000. Il en est de même d'ANDREOLI et coll. (12, 13) avec une technique particulière de chromatographie sur DEAE-cellulose.

En 1964 SEAL et DOE (302) étendent à la purification de TBG une méthode utilisant le gel de phosphate de calcium, et déjà mise au point pour l'isolement de la Transcortine sérique. Ils rapportent la composition en acides aminés de leur préparation, et établissent ainsi que la Transcortine, bien que très similaire, est différente de la Transthyroxine.

Une nouvelle étape vient d'être franchie avec le travail récent de GIORGIO et TABACHNICK (100), qui isolent TBG sous une forme hautement purifiée, et apportent de nouvelles précisions sur

ses caractéristiques, en confirmant plusieurs résultats obtenus par les auteurs précédents. Cependant la capacité maximale de fixation de leur préparation est inférieure de 25 % à celle à laquelle on pourrait s'attendre sur la base d'un site fort de fixation par molécule de protéine.

C'est ainsi qu'ils attribuent à la Transthyroxine :

- un poids moléculaire de 58,000 ,
- et une constante de sédimentation de $s_{20,w}^0 = 3.9 \times 10^{-13}$ sec.

L'on sait par ailleurs que TBG est une glycoprotéine acide riche en glucides (32 %), qui a un point isoélectrique voisin de pH 4.0 (39, 139, 242) et contient des radicaux d'acide sialique terminal (39, 139). L'immunoélectrophorèse avait semblé indiquer que la transthyroxine était une lipoprotéine (10, 180), mais l'on a pu pratiquement exclure cette hypothèse par la suite (322, 360).

GIORGIO et TABACHNICK (100) trouvent à cette glyco-protéine :

- 6.7 % d'hexose neutre
- 2.38 % d'acide sialique
- 3.31 % de glucosamine
- 0.70 % de galactosamine.

La combinaison entre T_4 et TBG répond aux lois régissant les équilibres réversibles, et se fait très rapidement. La liaison maximale se fait à pH neutre : elle est très réduite en milieu acide, et elle est à la moitié de son maximum vers le pK de l'hydroxyle phénolique de T_4 . La constante d'association entre T_4 et TBG est de l'ordre de 10^{10} M^{-1} (44).

Enfin il a été suggéré que TBG puisse être constituée de deux dimères de poids moléculaire grossièrement équivalent.

Au total, ces divers résultats demandent encore confirmation avant d'être définitivement acceptés ; la caractéristique la mieux établie est la constante d'association, qui a été trouvée à peu près la même par plusieurs méthodes.

2) La pré-Albumine, ou TBPA.

Sa purification a été plus aisée du fait de sa plus grande concentra-

tion sanguine, qui atteint 30 mg/100 ml. Elle a été réalisée de façon satisfaisante par plusieurs équipes au cours des dernières années (237, 250, 302). Nous donnerons plus particulièrement ici les résultats obtenus par OPPENHEIMER et coll. (237).

La pré-albumine fixatrice de T_4 est elle aussi une glycoprotéine. Cependant, elle semble contenir beaucoup moins de glucides que la Transthyroxine (297, 302), et ne renferme pas d'acide sialique (39, 139). Son poids moléculaire est de 70,000 (237, 302) et son coefficient de sédimentation $s_{20}^0 w = 4.6$ u. Svedberg. Elle contient 3.15 % de tryptophanne, et surtout ne renferme qu'un seul site de fixation par molécule (237).

Comme pour la TBG, la fixation de la thyroxine à TBPA semble hautement spécifique. Cependant elle se ferait de façon différente, comme en témoigne le fait que les analogues acétique et propionique de T_4 sont plus fortement liés que la thyroxine elle-même (39, 297).

La constante d'association entre T_4 et TBPA est assez nettement inférieure à celle de la Transthyroxine. On a pu la chiffrer à $1.2 \times 10^9 M^{-1}$.

La fixation maximale est obtenue in vitro aux alentours de pH 9. Mais l'affinité chute parallèlement à la baisse du pH, et paraît considérablement réduite, voire abolie, à pH 7.0 et même à pH 7.4 (114).

D'autre part, il faut rappeler que la TBPA ne semble pas fixer du tout la T_3 , et que cette même préalbumine pourrait aussi servir au transport de la vitamine A (9).

3) La sérum-Albumine.

Elle est bien connue, et on peut déjà l'obtenir à l'état très purifié. Diverses études ont donc porté avant tout sur la nature de son interaction avec la thyroxine (321, 326).

Sur ce plan, l'albumine semble douée d'une propriété unique par rapport aux deux autres protéines fixatrices : elle paraît avoir plus d'un site de fixation de T_4 par molécule. Cependant il convient de distinguer :

- d'une part, un seul site de fixation fort , caractérisé par une constante d'association de $1.6 \pm 0.4 \times 10^6$ à 26°C et pH 7.4.
- d'autre part, un nombre indéterminé de sites plus faibles (321, 333, 334, 362).

Les albumines bovine et humaine semblent similaires à ce point de vue, alors que l'albumine de poulet a une activité 8 fois supérieure au site primaire (364). Les sites sont relativement spécifiques de T_4 .

Si l'affinité de la Sérum-Albumine pour T_4 semble très inférieure à celle de TBPA et TBG, par contre la capacité de liaison semble pratiquement illimitée. Il faut tenir compte du fait que l'Albumine a une concentration sérique importante ; et qu'à l'état physiologique il y a 10^4 molécules d'albumine pour une de T_4 dans le sérum (326).

Enfin, nous avons vu que la T_3 se fixe sur l'albumine, cependant sa fixation est seulement de 1/6ème de celle de T_4 (321, 362).

D - Facteurs structurels intervenant dans la liaison de T_4 .

C'est tout d'abord sur l'albumine que l'on a pu étudier les facteurs intervenant dans la liaison de T_4 aux protéines.

C'est ainsi que la structure diphenyl-éther de la thyronine, la présence de quatre atomes d'iode, le groupement hydroxyle phénolique dissocié, ainsi que le groupement carboxyle de la chaîne latérale alanine semblent autant d'éléments essentiels pour une liaison solide à l'albumine (326). Cette liaison est fragilisée lorsqu'on diminue l'ionisation de l'hydroxyle phénolique de T_4 (321), ou lorsqu'on modifie l'albumine en l'iodant (251), en l'acétylant (333), ou encore par arylation de l'acide aspartique terminal (362). La fixation est diminuée par les acides gras, de même que par les autres anions (334, 335, 389) ; le chlorure 0.1 molaire la réduit de 50 % (334).

Plus récemment, ROSS et TAPLEY (284) ont étudié les facteurs structurels intervenant dans la liaison à TBG et TBPA. Dans le cas de la transthyroxine, la chaîne latérale alanine, et surtout son groupement amine, semblent essentiels ; de plus, pour une liaison

normale, la structure diphenyl-ether substituée, avec un hydroxyle libre ou méthylé paraissent nécessaires.

En ce qui concerne la Préalbumine au contraire, la chaîne latérale alanine ne semble pas essentielle pour une fixation optimale; le groupement amine de cette chaîne pourrait même diminuer la fixation. Par contre l'élément important pour la fixation semble être l'anneau phénolique diiodosubstitué avec un hydroxyle en position 4'. Il semble ainsi que ces premières études établissent une différence entre les facteurs intervenant sur la fixation à l'une et à l'autre des protéines les plus spécifiques.

E - L'interaction hormones-protéines et son exploration clinique.

La liaison des hormones thyroïdiennes aux protéines sériques, nous l'avons vu, est une liaison infra-covalente, mais qui cependant est précipitable. On a pu démontrer qu'elle répond à un équilibre réversible régi par la Loi d'Action de Masse. Si PF désigne l'une quelconque des trois protéines fixatrices, l'on peut écrire :



Soient (T_4) la concentration moléculaire de la thyroxine libre ou non-liée,

(PF) celle de la protéine fixatrice considérée,

($T_4 - PF$) celle de leur combinaison,

la vitesse d'association est (PF) (T_4) x K_a

la vitesse de dissociation du complexe est (PF - T_4) x K_d

à l'équilibre, les deux vitesses sont égales, et l'on a :

$$(PF) (T_4) \times K_a = (PF - T_4) \times K_d \quad (1)$$

$$\frac{(PF - T_4)}{(PF) (T_4)} = \frac{K_a}{K_d} = K \quad (2)$$

On obtient ainsi l'expression classique de la Loi d'Action de Masse. La constante K ainsi définie est la constante d'association du système.

Du fait qu'il existe chez l'homme trois protéines fixatrices, il faudra considérer l'ensemble des trois équations régissant chacun des équilibres. D'autre part, cette expression simplifiée suppose qu'il existe un seul site de fixation de thyroxine par molécule de protéine ; ce qui semble le cas pour la Transthyroxine et TBPA, mais non pour l'Albumine, nous l'avons vu.

La constante d'association K mesure l'affinité de la protéine pour l'hormone à laquelle elle se combine. Nous avons vu au paragraphe précédent que l'on s'est efforcé de chiffrer chacun des constantes d'association, qui seraient respectivement d'environ 10^{10} pour TBG, 10^9 pour TBPA, et 10^6 pour l'Albumine. Ceci corrobore le fait que l'affinité de la protéine pour T_4 va en décroissant dans le sens

TBG $\gg$ TBPA $\gg$ Albumine.

Outre l'affinité des sites protéiques de fixation, mesurée par la constante d'association, la molarité de l'hormone fixée dépend de la concentration sérique de ces sites de fixation. La capacité maximale d'une protéine pour T_4 est directement liée à sa concentration ; le facteur qui relie ces deux données étant le nombre de sites de fixation par molécule de protéine. Or celui-ci semble égal à l'unité dans le cas de TBG et de TBPA.

Sur le plan de l'exploration clinique, nous n'envisageons que l'étude de la liaison des hormones aux protéines sériques. Ceci fait sortir du cadre de notre sujet les tests globaux de mesure de l'hormonémie, c'est-à-dire le PBI, le BEI, le Test-Résines de BLANQUET et MEYNIEL.

Il n'existe actuellement aucune méthode de mesure directe de la concentration sanguine des protéines fixatrices. Il semble d'ailleurs douteux qu'on puisse jamais en établir une, car leur faible taux sérique forcerait à travailler sur de trop grandes quantités de sérum ; c'est ainsi que la purification de TBPA nécessite déjà l'emploi de 150 ml de sérum.

Pour cette raison, on peut mesurer désormais en clinique humaine la capacité maximale de fixation de TBPA et TBG,

Elle permet d'évaluer quantitativement la concentration de chacune de ces protéines, et ceci à une constante près représentant le rapport entre le poids moléculaire de la protéine et le nombre de sites de fixation qu'elle contient.

On utilise pour cela la méthode de saturation : après avoir ajouté à des échantillons de sérum des quantités croissantes de T_4 stable en présence d'une dose traceuse de thyroxine radio- active, on détermine après électrophorèse sur papier la proportion d'hormone totale liée à chacune des trois protéines ; on obtient la quantité d'hormone fixée en multipliant le pourcentage obtenu par la concentration présente dans l'échantillon. Cette quantité fixée devient constante quand la protéine est saturée : tous ses sites de fixation sont alors occupés. Les concentrations de thyroxine utilisées pour saturer TBG sont usuellement de 60 à 100 μg pour 100 ml et pour TBPA de 600 μg pour 100 ml, tout au moins dans le cas de l'électrophorèse sur papier Whattman.

C'est ainsi qu'en tampon glycine-acétate et grâce à l'électrophorèse à contre-courant, on a pu fixer les capacités maximales physiologiques

de la Transthyroxine à $22 \pm 2 \mu\text{g}$ de T_4 pour 100 ml (271, 339).
et de la Préalbumine à $260 \pm 20 \mu\text{g}$ de T_4 pour 100 ml (238).

Le premier de ces chiffres apparaît remarquablement constant pour une même technique, et semble indiquer que la concentration sérique de TBG reste stable chez l'homme normal. Au contraire la capacité de saturation de TBPA semble beaucoup plus labile, à l'état physiologique comme à l'état pathologique.

Il convient de remarquer qu'à l'état normal, pour une hormonémie moyenne de 8 μg pour 100 ml, un tiers à peine des sites de fixation de la seule Transthyroxine seraient occupés, et que la capacité maximale de fixation du sérum entier ne peut jamais être atteinte in vivo.

D'autre part, en tampon glycine acétate de pH 8.6, les proportions relatives fixées sur chaque protéine sont d'environ 60 % pour TBG, 30 % pour TBPA, et 10 à 15 % pour l'albumine (238, 324). Cependant, le fait que l'affinité de TBPA baisse lorsqu'on

tend vers les pH physiologiques voisins de 7.4, ainsi que les mesures obtenues par immunoprécipitation de TBPA (380), incitent à penser que la thyroxine serait normalement transportée à 70 - 75 % par TBG, 15 % par TBPA, et 10 à 15 % par l'albumine sérique.

Enfin, la combinaison de T_4 aux protéines sériques est très rapide, puisque l'interaction T_4 - albumine est complète en 150 millisecondes (280).

Il faut opposer aux méthodes de saturation l'ensemble des tests qui visent à mesurer la concentration globale de sites inoccupés du sérum. Très simples à pratiquer, ils sont entrés dans la pratique courante des tests paracliniques. Les plus répandus sont les variantes du test de Hamolsky, qui mesurent la répartition de T_3 marquée entre le sérum à explorer et un adsorbant qui peut être, soit des érythrocytes sensibilisés de diverse manière, soit une résine, et qui va capter la T_3 qui n'est pas fixée par les protéines du sérum.

L'autre volet important de l'exploration du transport sanguin des hormones thyroïdiennes est constitué par la mesure de la thyroxine libre ; elle semble en effet appelée à devenir un des éléments indispensables du bilan thyroïdien paraclinique. Elle tire son importance du fait que son appréciation permet d'avoir une idée assez exacte de la fraction hormonale active, et donc d'avoir une image de l'activité thyroïdienne beaucoup plus éloquente et plus dynamique que la simple mesure de l'hormone totale.

Du fait de la très faible concentration de T_4 libre (de l'ordre du ng pour 100 ml de sérum), il n'existe aucune méthode de mesure directe, mais seulement des méthodes indirectes. Les plus utilisées reposent soit sur la vitesse de dialyse, soit sur le pourcentage dialysé à l'équilibre d'une quantité traceuse de T_4 radioactive ajoutée au sérum à étudier. Il convient de remarquer que de telles méthodes se rapprochent des diverses variantes du test de Hamolsky, en ce sens qu'elles donnent une mesure de la fraction hormonale laissée libre par un système protéique déterminé, à savoir l'ensemble des protéines fixatrices du sérum considéré.

A l'heure actuelle, les méthodes de mesure des capacités de saturation, et de la fraction hormonale libre, sont encore du domaine des laboratoires de recherche où on les met au point. Nous y reviendrons en détail par la suite, puisqu'elles ont fait l'objet principal de notre expérimentation.

F - Aspects physiologiques de l'interaction.

La découverte et l'approfondissement des notions de fixation des hormones aux protéines sont venus compliquer de beaucoup la conception ancienne de la physiologie thyroïdienne, qui se résumait à l'effet produit sur le métabolisme périphérique par les hormones secrétées par la glande thyroïde.

De plus en plus la fixation de T_3 et T_4 aux protéines sanguines, mais aussi à celles des liquides interstitiels et aux protéines intracellulaires, apparaît comme le principal facteur assurant la régulation de leur répartition périphérique, donc de leur effet métabolique ; ainsi que de leur renouvellement au niveau cellulaire et de leur excrétion.

Un pas physiologique essentiel a toutefois été franchi lorsqu'on s'est aperçu que malgré l'omniprésence dans l'organisme de ces combinaisons, ce n'est vraisemblablement pas sous cette forme que se fait la pénétration de l'hormone dans la cellule. En 1957 ROBBINS et RALL introduisent la notion de thyroxine libre, ou non liée, qui découle nécessairement du fait que la combinaison hormones-protéines répond à un équilibre obéissant à la Loi d'Action de Masse. Elle est donnée de façon très simple par l'équation générale (3), tirée de l'équation (2).

$$(T_4) = \frac{(PF \cdot T_4)_i}{K_i (PF_i)} = \frac{\sum (PF \cdot T_4)_i}{\sum K_i (PF_i)} \quad (3).$$

où i représente chacune des classes de sites fixateurs.

$Si (T_4T)$ est la concentration de thyroxine totale

$$\sum (PF \cdot T_4)_i = (T_4T) - (T_4) \quad (4)$$

$$\text{et } (T_4) = \frac{(T_4T)}{\sum K_i (PF_i) + 1}. \quad (5)$$

L'on peut ainsi voir que la concentration de thyroxine libre à l'équilibre est directement proportionnelle à la concentration de thyroxine totale, et inversement proportionnelle à la

somme des produits de la constante d'association par la concentration de sites inoccupés de chaque protéine fixatrice. Cependant l'on peut concevoir que l'état d'équilibre puisse ne jamais être pleinement atteint du fait d'une utilisation périphérique permanente. Toutefois la concentration moléculaire de la thyroxine libre dépend nécessairement des mêmes facteurs (T_4T) et $\Sigma K_i (PF_i)$ (267).

Des équations analogues s'appliquent à T_3 et T_3 libre. Sur le plan expérimental, la triiodothyronine a pour caractéristique d'avoir une fraction libre d'environ 10 fois plus élevée que celle de la T_4 (de l'ordre d'un demi pour cent, contre un demi pour mille). Ceci semble à l'origine du fait que la demi-vie de la T_3 est beaucoup plus courte (2.4 jours contre 6.1 jours à la thyroxine) (326). Ainsi son rôle physiologique serait-il bien plus important que ne le laisse prévoir son taux sanguin, puisque la T_3 ne représente que 5 % de l'hormonémie totale ; et ceci d'autant plus que l'activité métabolique de la T_3 est de beaucoup supérieure à celle de la T_4 .

Le fait essentiel qui découle de ce qui précède est que l'utilisation périphérique de T_4 et T_3 est une fonction directe de la fraction hormonale libre, et non de la concentration totale d'hormone dans le sang. Ceci a pu être retrouvé expérimentalement dans de nombreux travaux sur les états thyroïdiens pathologiques, aussi bien que dans les variations parallèles du PBI et des protéines fixatrices totales.

Ainsi la consommation périphérique de T_4 n'est-elle reliée à la concentration hormonale totale du sang que par l'intermédiaire obligatoire de la capacité de fixation des protéines « transporteurs » de thyroxine. Existe-t-il un mécanisme de régulation physiologique à ce niveau ? Aucune réponse ne peut encore être fournie à cette question à l'heure actuelle. Très peu de données nous sont connues concernant la synthèse de TBG et de TBPA ; on peut cependant supposer qu'elle est hépatique, comme celle des autres glycoprotéines, avec lesquelles elles pourraient également avoir en commun le fait de se renouveler très rapidement (306). Le foie semble par ailleurs jouer un rôle important dans le métabolisme des hormones thyroïdiennes, puisqu'il ne représente pas moins du tiers de l'espace corporel total de la thyroxine. Divers travaux récents insistent sur l'importance de la fixation intra-cellulaire de la thyroxine par l'hépatocyte (48, 102, 117, 231). Quant à la régulation du mécanisme de synthèse des protéines fixatrices, BRAVERMAN et coll. ont récemment émis l'hypothèse

d'une régulation réciproque entre synthèse de TBG et TBPA ; le niveau de la seconde pouvant physiologiquement s'ajuster en fonction de celui de la TBG (45).

Au total, il faut considérer le rôle possible de la liaison aux protéines chez le sujet normal. Elle n'affecte ni l'action, ni même la production de l'hormone, tout au moins à l'équilibre, mais plutôt le niveau de l'hormone totale du sang. Si elle ne paraît pas essentielle au maintien d'un équilibre physiologique normal, elle constitue cependant un réservoir d'hormone immédiatement utilisable. C'est un système tampon qui masque les effets de changements brutaux de synthèse ou de dégradation de l'hormone qui pourraient survenir en l'absence de transthyroxine (252).

Si l'importance physiologique réelle du phénomène de fixation est encore à évaluer de façon plus exacte, son rôle paraît déjà fort net dans plusieurs domaines de la pathologie ; et ceci aussi bien dans les maladies thyroïdiennes que dans les troubles métaboliques d'origine diverse sur lesquels la fixation va intervenir en jouant le rôle d'un facteur actif. C'est ainsi que les protéines fixatrices semblent « accentuer » la pénurie d'hormone à la périphérie dans l'hypothyroïdie ; alors qu'à l'inverse elles « aggravent » l'hyperproduction hormonale dans l'hyperthyroïdie.

De la même façon, toute atteinte hépatique grave, tout syndrome de déperdition protéique va modifier le système fixateur ; l'élévation du taux sérique de composés normaux (bilirubine), l'administration de médicaments compétitifs vis-à-vis des sites de fixation de T_3 et T_4 vont provoquer une accélération du turn-over hormonal. Celle-ci ne sera compensée que plus tard, par un ajustement de la sécrétion thyroïdienne, et il apparaît que dans certains cas et au moins à court terme, l'augmentation de la thyroxine libre n'est pas totalement compensée par la baisse du taux de sécrétion de la glande.

Enfin, la chute de la capacité de fixation de TBPA apparaît être une réaction non-spécifique qui survient dans une grande variété de maladies (145, 238). D'autre part, la liaison hormones thyroïdiennes - protéines est thermosensible entre 37° et 40° C. Ces deux faits semblent concourir à l'augmentation du taux de T_4 libre à l'état de maladie.

Ainsi l'avenir de l'exploration des variations dues au

système protéique fixateur paraît-il aussi prometteur dans le domaine pathologique et physiopathologique que dans le domaine physiologique proprement dit.

G - Variations physiologiques et variations dues au milieu.

- La teneur en iode du régime alimentaire est éminemment variable ; néanmoins les variations de l'iodure minéral qu'elle induit ne modifient pas le niveau de l'iodure hormonal sanguin aussi longtemps que les variations alimentaires peuvent être compensées par une adaptation de la captation thyroïdienne, ou de la sécrétion d'hormone par la glande.

- Les variations journalières

Divers travaux n'ont retrouvé que peu ou pas de fluctuations de l'iodure hormonal sanguin pendant le nycthémère (193, 293). Lorsqu'une variation journalière du PBI (190), de la thyroxine totale (371), ou encore de la thyroxine libre (170), a pu être mise en évidence, il a été possible d'en retrouver l'origine dans les variations du volume plasmatique corporel.

- L'activité physique

Si un exercice physique modéré paraît sans effets importants, par contre un effort musculaire intense mais de courte durée semble diminuer le taux de T_4 libre sans modifier de façon appréciable les protéines fixatrices (167, 219). Un entraînement poussé et prolongé abaisse légèrement le PBI, et surtout augmente jusqu'à trois fois le taux journalier de dégradation de T_4 (42, 148).

- Variations climatiques et géographiques

Chez l'animal, de nombreux travaux ont montré que l'exposition au froid augmente l'activité thyroïdienne tout en abaissant le PBI, alors qu'au contraire la chaleur prolongée inhibe l'activité thyroïdienne (254).

Chez l'homme, ces résultats ont été plus irréguliers, vraisemblablement du fait des circonstances expérimentales moins

rigoureuses (283, 286, 375). L'élévation du PBI retrouvée chez les esquimaux canadiens (103) semble liée davantage à des facteurs génétiques raciaux qu'à un effet dû au climat. Il en est de même des autres variations géographiques actuellement connues, concernant les habitants des îles Marshall qui ont un PBI plus élevé, et les congolais de race noire, qui ont une capacité de la transthyroxine augmentée (253, 366).

- L'âge et le sexe

Les protéines fixatrices, TBG, TBPA et Albumine, peuvent être détectées chez le fœtus dès la 8-10ème semaine ; elles semblent les mêmes que chez l'adulte, à la différence de ce qui se passe chez le lapin où paraît exister une protéine spéciale au fœtus (15, 209, 211). Par la suite les concentrations de TBG et TBPA augmentent avec l'âge du fœtus, mais restent en dessous de celles qui existent simultanément chez la mère. Cependant, malgré ces différences, il semble que la thyroxine libre soit la même dans le sang du cordon et dans le sérum maternel, ce qui suppose qu'il existe un équilibre entre thyroxine libre maternelle et foetale. (221, 311).

A terme, la concentration de TBG chez le nouveau-né est toujours inférieure à celle de la mère, mais supérieure à celle de l'adulte normal (67, 201, 241, 265); la capacité de TBPA est elle aussi inférieure à celle de la mère, et surtout considérablement inférieure à celle de l'adulte normal (220, 221, 241).

L'hormone totale mesurée par le PBI est inférieure à celle de l'adulte, mais elle commence à s'élever quelque 12 heures après la naissance pour atteindre un pic de 150 % de sa valeur de départ après 1 à 3 jours de vie (62). Ceci a pu être rapproché de la chute de température corporelle à 34.4 - 36.3° C qui se produit chez le nouveau-né dans les 4 premières heures de vie extra-utérine; en effet, si l'on place l'enfant dans un incubateur pour empêcher ce refroidissement, l'augmentation du PBI ne se produit plus (83). Il s'agirait ici d'une réponse hypothalamique au refroidissement, à une époque où l'axe hypophyso-thyroïdien n'est pas encore fonctionnel.

Après 3 à 5 jours de vie, le PBI de l'enfant commence à décroître, mais même à un an reste légèrement supérieur à celui de l'adulte (62, 183). A l'adolescence, PBI et BEI tendent à diminuer

en dessous du taux de l'adulte, en même temps que le turn-over de T_4 a tendance à augmenter (22, 183, 229, 256). Ces changements s'accompagnent d'une chute marquée, mais transitoire, de la capacité de TBPA, alors que celle de TBG reste normale (182). Ces variations pubertaires semblent être liées à la période de croissance rapide.

Chez le vieillard, on a rapporté une chute du PBI (365) aussi bien qu'une persistance du PBI normal (57, 98).

Enfin il existe des différences dans le transport sanguin des hormones selon le sexe . Nous n'entrerons pas ici dans les détails, puisqu'une partie de notre travail concerne l'étude des hormones thyroïdiennes dans le sang au cours du cycle menstruel.

Cependant il nous faut rappeler que le PBI et la concentration de thyroxine sont légèrement plus élevés chez la femme. Ceci traduit le fait que la capacité de la transthyroxine semble plus haute dans le sexe féminin (45, 182, 336, 338), alors que celle de TBPA y paraît plus basse que dans le sexe masculin. Il n'existe cependant pas de différence significative en ce qui concerne la thyroxine libre d'un sexe à l'autre.

Tous ces effets observés physiologiquement objectivent l'effet indiscutable des stéroïdes gonadiques sur les composantes du transport des hormones thyroïdiennes.

- Le stress

nous conduit aux frontières du domaine de la pathologie que nous allons ensuite envisager. Diverses agressions, telles que le choc électrique et l'hyperthermie, le choc à l'insuline et au cardiazol, ainsi que le traumatisme chirurgical (222, 301, 329) augmentent l'iode lié aux protéines; mais ceci est controversé, et il faut encore une fois tenir compte des variations du volume sanguin (258). En outre l'action de l'adrénaline au cours du stress pourrait être à l'origine des changements de sécrétion ainsi observés, à court terme (hausse du PBI) comme à long terme (diminution du PBI) (116, 143, 203, 313).

H - Variations dans les maladies thyroïdiennes.

La mesure de l'hormone libre y revêt une importance toute particulière ; en effet les variations en sont beaucoup plus amples que celles de l'hormone totale, et l'on peut ainsi espérer avoir une meilleure précision aussi bien diagnostique que pronostique et évolutive.

Dans l'hyperthyroïdie, l'accroissement de la sécrétion de la glande amène une augmentation de l'hormone sanguine totale en dehors des limites physiologiques. Comme les protéines fixatrices sont loin d'augmenter dans les mêmes proportions, il se produit d'une part une diminution de la concentration de sites inoccupés, ce que traduit le test de HAMOLSKY ; d'autre part et surtout une augmentation du pourcentage et de la concentration absolue de la thyroxine libre, elle-même à l'origine d'une accélération du métabolisme périphérique. Ainsi peut-on comprendre que l'augmentation relative de T_4 libre est plus grande que l'élévation de l'hormone totale, qui est limitée et ne dépasse que très rarement $25 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ pour le PBI ; et donc que la thyroxine libre dans l'hyperthyroïdie atteint fréquemment 4 à 5 fois sa valeur normale, alors que le PBI par exemple est d'en moyenne 2.5 fois son taux normal (137, 145, 238, 323). Puisque la variation de la concentration de thyroxine libre est bien plus grande que celle de l'hormone totale, on conçoit l'intérêt de sa mesure pour une meilleure appréciation de l'état fonctionnel thyroïdien du patient que l'on étudie. Ceci permet de corroborer le fait que le degré d'augmentation de l'hormone totale ne correspond pas à la gravité de l'affection (296), ainsi que d'expliquer les cas où un état hyperthyroïdien peut se manifester malgré une hormone totale normale, lorsque la capacité de TBG est anormalement abaissée (49). Cependant les variations des protéines fixatrices observées dans l'hyperthyroïdie se réduisent le plus souvent à une diminution modérée de la capacité de la transthyroxine (109, 137, 171), alors que celle de TBPA est plus fréquemment abaissée de manière notable (137, 140, 238). Ceci est fort probablement à l'origine du fait que l'augmentation de T_4 libre chez les hyperthyroïdiens est plus grande pour une concentration d'hormone totale donnée, que celle observée expérimentalement lorsqu'on enrichit un sérum normal avec des concentrations croissantes de thyroxine (113, 145).

Il faut en outre rappeler que la proportion de T_3 peut être augmentée dans l'hyperthyroïdie, voire même devenir un élément déterminant important de l'affection (113, 308), et que le sang peut véhiculer des iodo-tyrosines (32, 76, 377), voire même des protéines iodées telles que de l'iodoalbumine (318) ou de la thyroglobuline. (124).

- Hypothyroïdie

Dans les maladies par hypofonctionnement du corps thyroïde, se produit le phénomène inverse de ce qui se passe dans l'hyperthyroïdie. En effet la fraction hormonale libre est très basse, non seulement du fait de la chute de l'hormonémie totale, mais davantage encore du fait qu'il existe une augmentation, modérée mais constante, de la capacité maximale de fixation de TBG (171, 238, 271, 336). Cet abaissement considérable de l'hormone libre coïncide souvent avec un niveau sanguin élevé d'iode non hormonal. Par ailleurs le transport sanguin proprement dit n'est pas perturbé dans une plus grande mesure dans les goîtres avec présence de corps iodés anormaux dans le sang : iodo-tyrosines, iodopeptides, iodoprotéines ou thyroglobuline.

- Thyroïdites

Dans la thyroïdite de HASHIMOTO le PBI peut être élevé, mais il existe, comme dans les goîtres avec troubles enzymatiques, une dissociation importante entre PBI et BEI.

En effet, une importante fraction de l'iode n'est pas extractible par le butanol, quoi qu'elle soit liée aux protéines ; ceci traduit le fait qu'il y a en circulation des iodoprotéines ressemblant à l'albumine (106, 239, 358), à côté des anticorps anti-thyroglobuline et probablement de la thyroglobuline, au moins de façon passagère.

On a démontré chez le cobaye que la thyroxine se fixe sur l'anticorps anti-thyroïdien circulant (249) mais une telle démonstration n'a pas encore été faite chez l'homme. On peut cependant en rapprocher la fixation de T_4 sur les gamma-globulines observée dans un cas de cancer thyroïdien (274).

Dans les thyroïdites subaiguës enfin, on peut retrouver la même dissociation entre iode lié aux protéines et iode extractible par le butanol. Le composé iodo-protéique anormal pourrait être

la thyroglobuline ; on l'a en tout cas démontré dans la thyroïdite due à l'irradiation intense par ^{131}I (266, 359) ainsi que dans le traumatisme chirurgical (172, 391).

I - Variations génétiques des protéines fixatrices.

Les principaux désordres d'origine génétique que l'on a pu observer jusqu'ici concernent la transthyroxine. C'est actuellement une des deux seules protéines de mammifère (avec la glucose-6-phosphate déshydrogénase) pour lesquelles on connaisse aussi bien des cas d'augmentation que de diminution d'origine génétique (151).

Plusieurs publications ont tout d'abord porté sur des cas sporadiques d'élévation de la capacité de TBG (147, 153, 338).

Par la suite, l'étude de deux familles porteuses du trait a permis aux auteurs de conclure que le mode de transmission en était autosomique dominant (23, 24, 88). Cependant, NIKOLAI, SEAL et JONES , à l'occasion de l'étude d'une nouvelle famille, ont fait ressortir que l'on pouvait également interpréter tous les cas d'augmentation de la transthyroxine déjà publiés comme témoignant d'un trait dominant lié au sexe, et en particulier au chromosome X ; les niveaux de transthyroxine les plus élevés se voyant chez les sujets masculins (151, 226). Ces auteurs montrent en outre que malgré son niveau élevé, la concentration sérique de TBG s'accroît encore sensiblement si on administre des oestrogènes, en même temps d'ailleurs que la transcortine, qui elle était normale au départ (151). Cependant cette anomalie génétique semble peu répandue, puisque l'étude systématique de 1400 individus n'a révélé aucun cas supplémentaire (153).

Au contraire, l'absence ou la diminution héréditaire de la transthyroxine pourrait s'observer avec une plus grande fréquence. Ici aussi, à côté de plusieurs cas isolés (25, 141, 337), ont été étudiées quatre familles de façon complète (188, 225 à 227); plus que d'un phénomène autosomique, il semble encore s'agir d'un trait dominant lié au chromosome X ; la transthyroxine est absente chez les hommes atteints, alors que les femmes ne sont porteuses que d'une déficience variable (188, 227). Il n'est pas très surprenant de constater que les sujets porteurs ne répondent ni aux oestrogènes, ni à la

grossesse, par une élévation de TBG, bien qu'ici encore la transcortine soit présente et réponde normalement (25, 141, 226).

Chez tous les porteurs d'anomalies héréditaires de la transthyroxine, il semble bien établi que le métabolisme de base, la captation thyroïdienne de l'iode, et la « consommation » journalière de T_4 sont complètement normaux; les variations essentielles qui témoignent de l'affection sont le raccourcissement ou l'allongement de la demi-vie de la thyroxine, et parallèlement l'abaissement ou l'élévation de l'hormone totale, qui s'ajuste au niveau sanguin des protéines fixatrices de façon à maintenir une concentration normale de thyroxine libre (147, 326). C'est ainsi que chez les déficients en TBG, NIKOLAI et SEAL trouvent des PBI allant de 1.4 à 2.2, alors que chez les sujets à TBG élevée JONES et SEAL obtiennent des PBI entre 10.8 et 16.5 (151, 225); ainsi de tels chiffres, qui sortent complètement des limites normales, sont-ils compatibles avec un état d'euthyroïdie stricte.

En ce qui concerne la TBPA, on n'a rapporté aucun désordre génétique affectant électivement cette protéine; bien que BLUMBERG et ROBBINS aient rapporté une variation héréditaire de sa motilité électrophorétique chez le singe (38). Par contre on connaît des variations de la sérum-albumine de plusieurs types; en particulier, dans l'albuminémie les capacités maximales de fixation de TBG et TBPA sont augmentées, comme d'ailleurs les concentrations sanguines de nombreuses autres protéines (129). Le PBI est normal, mais la thyroxine libre est élevée, ce qui est étonnant si l'on considère les concentrations sériques importantes des protéines fixatrices majeures; l'explication de ce phénomène est encore inconnue. Dans la bis-albuminémie, on a pu observer que soit les deux (15), soit seulement la plus lente des albumines, considérée comme la protéine anormale, fixe la thyroxine (290).

J - Variations dans les maladies non-thyroïdiennes.

a) autres maladies endocriniennes :

Etant donné l'effet bien établi des oestrogènes et des androgènes sur la concentration sérique de la transthyroxine, on

peut concevoir que des variations plus ou moins importantes du transport sanguin surviennent dans les maladies avec hypersécrétion ovarienne ou testiculaire. Cependant on ne dispose pour l'instant de données que sur ce qui se passe dans la môle hydatiforme où l'on observe les changements caractéristiques de la grossesse, à savoir augmentation de la capacité de la transthyroxine, et de l'hormone sanguine totale (66); cependant, ces effets peuvent ne pas être retrouvés dans le chorio-carcinome, vraisemblablement du fait de la sécrétion d'un facteur TSH par la tumeur (66, 224, 230).

Dans l'acromégalie évolutive pourraient exister deux phases successives selon la durée d'évolution : à la première on observe une augmentation de la capacité de TBPA et une baisse de la T_4 libre ; après cinq ans d'évolution en moyenne, on constate au contraire une diminution de la capacité de la transthyroxine et une chute de l'hormone totale, avec une thyroxine libre normale (138, 285).

b) maladies hépatiques :

Le foie synthétisant la plus grande partie des protéines sériques, on peut s'attendre à ce que son atteinte en pathologie soit à l'origine de désordres au niveau des protéines transporteuses. Il existe deux types de modifications selon la gravité de l'atteinte cellulaire hépatique.

C'est ainsi que dans l'hépatite infectieuse on peut observer à la phase aiguë un PBI anormalement élevé (95, 161, 205, 292), qui semble coïncider avec une augmentation de la capacité de la transthyroxine (29, 367, 368). Il en est de même dans la cirrhose où le PBI peut être élevé (161, 336), mais plus souvent encore normal; alors que la capacité de la TBG peut être augmentée (312, 336) en même temps que la fixation de T_3 par les hématies est abaissée (95).

Mais dans l'hépatite comme dans la cirrhose, si l'atteinte cellulaire est suffisamment importante, les modifications inverses vont apparaître : chute du PBI (161), et augmentation de la fixation de T_3 aux hématies (112). Ces faits ne semblent pas dus à la chute de la sérum-albumine sérique, même si elle est importante; mais plutôt à des changements de la capacité maximale de TBG et TBPA. La diminution de la synthèse de la sérum-albumine pourrait indiquer

qu'il se produit parallèlement une diminution de la synthèse des autres protéines fixatrices.

Dans l'ictère obstructif, contrairement à ce qui se passe dans l'hépatite et la cirrhose, on a démontré chez l'homme l'existence de composés glycuconjugués des hormones thyroïdiennes (368) retrouvés auparavant chez le rat (282). Par ailleurs la bilirubine diminue la fixation de T_4 à l'albumine, mais ce phénomène n'a probablement qu'un retentissement physiologique mineur (335).

c) syndromes néphrotiques :

Leur caractéristique paraclinique essentielle est une hypoprotéïnémie plus ou moins considérable, avec cependant une conservation au moins relative des α_2 et β globulines. Le transport des hormones thyroïdiennes y paraît modifié de façon sensible, car il est fréquent de retrouver un PBI très abaissé (243, 257) qui coexiste avec une fonction thyroïdienne normale ou plus souvent hyperactive (257, 310). Ce fait semble dû à un taux plasmatique diminué pour la transthyroxine et l'albumine (56, 271); il y a une perte urinaire importante de thyroxine sous forme de complexes T_4 - TBG et T_4 - albumine (56, 93, 257, 271). Cependant il ne semble pas exister d'anomalie qualitative majeure de la transthyroxine dans ces affections (271).

d) maladies diverses :

Il a été possible de mettre en évidence au cours des dernières années un syndrome biologique analogue dans de nombreuses maladies aiguës et chroniques, et consistant en un abaissement du PBI, coexistant parfois avec une thyroxine libre élevée et une accélération du turn-over de T_4 , ces éléments semblant dûs à des modifications variables des protéines fixatrices.

C'est ainsi que les premiers travaux ont montré une chute du PBI dans les maladies chroniques sévères avec altération de l'état général, modification que l'on pouvait mettre en parallèle avec un certain degré d'hypoalbuminémie (71, 162); alors que cette chute ne se retrouvait pas dans les maladies aiguës comparables (71). Par la suite, divers auteurs ont constaté que la capacité de fixation et la

concentration sérique de TBPA étaient abaissées de façon très marquée dans un grand nombre de maladies aiguës et chroniques, et que cette baisse de la TBPA semblait jouer le rôle majeur dans l'augmentation de la thyroxine libre et du turn-over de T_4 que l'on observait chez les mêmes malades (140, 238, 312, 331).

Il ressortait alors qu'il s'agissait plus vraisemblablement d'une diminution de la synthèse de TBPA que d'une accélération du turn-over de la protéine (312), et ceci d'autant plus que le turn-over de la TBPA semble particulièrement rapide pour une protéine sanguine ; ce qui implique qu'une baisse de sa synthèse, comme en post-opératoire, va retentir très vite sur sa concentration sérique (331).

Cependant un travail récent de BELLABARBA et coll. (26) semble indiquer que si cette baisse de TBPA est un signe fréquent et relativement précoce dans l'état de maladie, elle n'est sans doute pas responsable de la plus grande partie des modifications de la T_4 libre susceptibles de survenir chez le malade ; en effet, la transthyroxine s'abaisse à son tour lorsque l'atteinte générale devient importante, par exemple dans les cas de cancer avec troubles métaboliques marqués. C'est dans ces cas semble-t-il que l'on peut observer un syndrome « d'hypermétabolisme sans désordre endocrinien », avec augmentation de la thyroxine libre, du turn-over de T_4 , et du métabolisme basal. D'autre part, compte tenu des constantes d'association de chacune des protéines fixatrices, il semble logique que la thyroxine libre soit inversement proportionnelle à la capacité de fixation de TBG bien plus qu'à celle de TBPA (26). Ainsi la baisse de TBPA apparaît-elle comme un signe fréquent et non spécifique de maladie, n'ayant que des implications métaboliques mineures, et en particulier n'élevant pas la T_4 libre de façon importante ; alors que la baisse de TBG ne survient que dans l'état de maladie grave, et provoque (ou s'accompagne) d'un syndrome d'hypermétabolisme clinique et paraclinique. Ce syndrome d'hypermétabolisme a d'ailleurs été démontré expérimentalement chez le rat après implantation d'une tumeur maligne (99).

Il paraît alors logique de penser qu'à plus long terme va se produire une compensation par réduction du taux de sécrétion thyroïdien ; c'est effectivement ce qui semble se passer chez de nombreux malades, et entraîne la baisse du PBI (31) ; l'autre possibilité étant que cette baisse se fasse isolément du simple fait de la diminution de la capacité totale de fixation du sérum. Cependant ce n'est pas toujours le cas, et assez souvent hormones totales et libres

restent élevées, entraînant une augmentation de la consommation périphérique de T_4 (26, 31, 238). Les niveaux d'hormone libre atteignent 1.5 à 2 fois la moyenne, mais sont cependant nettement inférieurs à ceux observés dans l'hyperthyroïdie. D'autres facteurs peuvent concourir à cette augmentation : la fièvre, puisque par simple phénomène physico-chimique la fraction libre donc métabolisable de l'hormone s'élève significativement (20 à 30 %) entre 37° C et 40° C (26, 31, 300); d'autre part, peuvent être administrés chez ces malades des médicaments concurrents des hormones thyroïdiennes vis-à-vis des sites de fixation. Enfin, en ce qui concerne l'étape post-opératoire, il ne faut pas négliger le rôle de l'anesthésie par l'éther, qui augmente de façon rapide l'hormone sanguine totale, peut-être par redistribution de T_4 tissulaire (90). Il est intéressant de noter qu'en dehors des cas de cancer ou de leucose, de tels syndromes avec augmentation de T_4 libre ont été retrouvés dans les infections pulmonaires aiguës avec fièvre, ainsi que dans les tachycardies supra-ventriculaires (104 , 294) Il s'agit probablement ici d'un des domaines les plus intéressants de l'application de la physiologie des protéines fixatrices des hormones thyroïdiennes.

Par ailleurs on a signalé des cas d'augmentation du PBI et des protéines fixatrices dans des maladies diverses, telles que le cancer du sein (47), la porphyrie intermittente aiguë (119, 127), et la dystrophie musculaire (61).

K - Effet de divers médicaments.

Parmi les corps chimiques connus pour interférer avec le transport de T_3 ou T_4 , on doit distinguer ceux qui sont compétitifs vis-à-vis des sites de fixation, et ceux qui changent la capacité de fixation du sérum en intervenant dans la synthèse ou le turnover des protéines.

Dans la première catégorie, un seul médicament est connu pour agir sur TBG : c'est la diphenylhydantoïne, utilisée comme antiépileptique, et dont les caractéristiques moléculaires ressemblent à celles de T_4 (236, 283) ; donnée à doses thérapeutiques relativement importantes, elle entraîne une baisse du pourcentage fixé à la transthyroxine, ainsi qu'une baisse de l'hormone totale, qui pourrait ne pas être uniquement due à la régulation du niveau normal de la T_4 libre (50).

Vis à vis des sites fixateurs de TBPA, on connaît au contraire plusieurs composés concurrentiels de T_4 : ce sont les salicylates à forte dose, le 2-4 dinitrophénol (254), et le véronal ou barbital, comme nous l'avons vu en introduction. Il existe certainement de nombreux autres corps agissant de la même façon, mais dont le mécanisme d'action n'a pas encore été précisé de façon certaine. Il faut rapprocher du mécanisme de compétition l'effet des acides gras libres, ou non estérifiés (128), ainsi que celui de l'héparine, qui augmente rapidement et de façon importante la thyroxine libre, peut-être par le même effet (295).

Quant aux médicaments qui modifient les capacités de fixation de la transthyroxine et de la pré-albumine, ce sont avant tout les oestrogènes et les anti-ovulatoires comme le noréthynodrel, qui augmentent la capacité de TBG, alors que la noréthindrone est connue pour augmenter celle de TBPA. Au contraire, les androgènes et les stéroïdes anabolisants, ainsi que les stéroïdes surrénaliens à forte dose, sont connus pour diminuer la capacité de la transthyroxine et secondairement le PBI (268).

Ainsi, aussi bien l'état de maladie que le traitement qu'on lui applique sont susceptibles dans un assez grand nombre de cas de provoquer des modifications du transport des hormones thyroïdiennes. De nouvelles études apparaissent nécessaires pour mieux préciser quelles sont les conséquences métaboliques de tels changements dans le but de pouvoir éventuellement y remédier.

CHAPITRE III

DOSAGE DE LA THYROXINE LIBRE DU SERUM HUMAIN

C'est tout d'abord théoriquement que la nécessité de l'existence d'une fraction thyroxine libre a été établie par ROBBINS et RALL en 1957, comme étant la seule hypothèse pouvant expliquer les données de la physiologie et du turn-over des hormones thyroïdiennes déjà connues à cette époque (271). Ces mêmes auteurs parviennent à calculer de façon théorique l'ordre de grandeur de cette fraction libre, soit environ 10^{-11} M.

Mais la mesure expérimentale de la thyroxine libre s'est avérée difficile du fait de la petitesse de sa concentration dans le sérum, qui est de l'ordre du nanogramme pour 100 ml de sérum. C'est en 1959 que CHRISTENSEN (53) établit une première méthode faisant appel à la dialyse à travers une membrane hémi-perméable, et mesurant plutôt la vitesse de dialyse de la fraction libre que cette fraction libre elle-même. En 1962, STERLING et HEGEDUS publient la première méthode de mesure « directe » (325); la thyroxine libre ainsi mesurée correspond à la T_4 qui a traversé une membrane hémi-perméable lorsque l'état d'équilibre est atteint dans un système où du sérum marqué avec une quantité traceuse d'hormone radio-active est dialysé contre du tampon isotonique. La méthode sera améliorée avec la séparation de la thyroxine libre dans le dialysat par précipitation avec le Magnésium (323). Cette procédure permet de calculer le

pourcentage du traceur sous forme libre ; on obtient la concentration d'hormone non-liée en faisant le produit du pourcentage libre par la concentration d'hormone totale mesurée par ailleurs.

L'obstacle majeur de l'ensemble des méthodes est représenté par le fait que la radioactivité de T_4 libre dans le dialysat est très petite en regard de celle des impuretés contenues dans le traceur (avant tout l'iode), qui dialysent facilement, puisque non liées aux protéines. Le problème réside donc dans la séparation de façon précise et fidèle de la thyroxine et des impuretés iodées contenues dans le dialysat. C'est ainsi que d'autres méthodes ont été proposées pour réaliser cette séparation : emploi du Séphadex (173); mesures en sérum dilué au 1/150ème, permettant une précipitation de la T_4 par l'acide trichloracétique, mais demandant une correction pour l'effet de dilution (232); ou encore addition de sérum au dialysat pour capter la T_4 , suivie d'extraction de l'iode par dialyse contre de l'Amberlite IRA 400 (145).

Chacune de ces méthodes donne des résultats propres satisfaisants, mais cependant légèrement différents quant au taux normal d'hormone libre. Dans l'ensemble, les résultats ont eu tendance à baisser d'une publication à l'autre ; c'est ainsi que le pourcentage normal de T_4 libre est passé de 0.05 % à environ 0.02 % dans les publications les plus récentes. Pour expliquer ce fait, et en dehors des effets de la dilution, qui sont encore à discuter, on a pu mettre en évidence l'intervention de divers facteurs de procédure dont nous parlerons dans notre étude.

Dans le but d'étudier certains états physiologiques ou pathologiques de l'humain, nous avons adopté pour notre part la méthode de STERLING et BRENNER (323) de mesure du pourcentage de thyroxine libre sur le sérum non dilué. Cependant il s'est rapidement présenté à nous un certain nombre de difficultés techniques dans la mise au point de cette méthode dans notre laboratoire. La résolution de ces problèmes nous a amené à préciser entre autres certains paramètres susceptibles de jouer dans la réaction de précipitation de la thyroxine par le chlorure de magnésium sous la forme d'un chélaté. Le but de ce travail est donc de présenter les résultats de notre expérience avec cette technique.

A - MATERIEL et METHODES.

1) Patients :

Les études de technique ont été effectuées sur un ensemble de sujets normaux choisi parmi le personnel du centre hospitalier.

Ces sujets permettent en outre d'étalonner la méthode. Les résultats ont ensuite été complétés par des mesures de la thyroxine libre du sérum de malades hospitalisés dans les hôpitaux affiliés, cliniquement euthyroïdiens, et porteurs d'un ensemble d'affections diverses, sans toutefois de troubles métaboliques importants.

Enfin un groupe d'hyperthyroïdiens et d'hypothyroïdiens, diagnostiqués et traités par les médecins de la clinique, ont permis de couvrir l'éventail des valeurs que peut rencontrer la méthode; les résultats étant mis en parallèle avec ceux des examens cliniques et paracliniques de ces patients.

2) Sérums :

Les divers sérums utilisés sont conservés congelés s'ils ne sont pas employés dans la journée même où ils ont été prélevés.

3) Objet d'étude :

Détermination du pourcentage de thyroxine libre après adjonction d'une quantité traceuse de thyroxine ^{125}I au sérum.
Calcul de la thyroxine libre totale et de l'iode thyroïdien du sérum.

Nous avons adopté la méthode de mesure de la thyroxine libre publiée en 1966 par STERLING et BRENNER, avec un certain nombre de modifications que nous allons détailler dans ce qui suit.

4) Matériel :

a) Solutions utilisées

- Solutions de stock

Tampon phosphate hypertonique 0.15M de pH 7.4

234 ml de K_2HPO_4 0.5M + 66 ml de KH_2PO_4 0.5M

Amener à 1 litre avec de l'eau désionisée.

Solution de Merthiolate

Solution à 1 % de merthiolate dans du tampon isotonique.

Solution de précipitation au Magnésium

Solution à 40 % de $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ dans l'eau désionisée.

Solution Tris-NaCl

250 ml de TRIS 0.2 M + 66.6 ml de NaCl 1.5 M

Amener à 1 litre avec de l'eau désionisée.

Le pH de cette solution est d'environ 10.4

Solution de thyroxine

Solution de stock 2 mg/ml en bouteille plastique brune.

Il convient de corriger le sel de sodium pentahydraté de thyroxine de l'eau et du sodium qu'il contient.

Poids moléculaires de la thyroxine : 777

de NaT_4 : 799

de $NaT_4 \cdot 5H_2O$: 883

1 gramme de $NaT_4 \cdot 5H_2O$ contient donc $\frac{1000 \times 777}{889} \approx 874.015$ mg de thyroxine

Peser 2.29 mg de $NaT_4 \cdot 5H_2O$ équivaut donc à peser $2.29 \times 0.874 =$

2.001 mg de thyroxine.

On dilue la L-Thyroxine dans NaOH 0.066 N.

Traceur

La thyroxine marquée à l'iode 125 (au lieu de $^{131}I-T_4$) est diluée au 1/30è - 1/50è selon son activité spécifique et sa concentration gravimétrique dans une solution d'albumine à 0.125 % de façon à ne dépasser la concentration de T_4 de 20 $\mu g/100$ ml dans le traceur dilué.

Autres solutions

Solutions HCl 2N pour titration

Solution NaOH 0.066 N

(Mélanger une partie de 0.2N NaOH avec deux parties d'eau désionisée).

Solutions utilisées durant l'expérience

Tampon phosphate isotonique (Solution A).

100 ml de tampon hypertonique
plus 150 ml d'eau désionisée (0.06M).

Tampon phosphate isotonique avec Merthiolate au 1:10,000 :

99 ml de tampon isotonique plus 1 ml de Merthiolate 1 %

On utilise cette solution A pour l'incubation.

Solution de précipitation au Magnésium (solution B)

200 ml de $MgCl_2$ à 40 %

plus 600 ml de solution TRIS-NaCl

le pH de cette solution sans titration est de 9.3

Solution de lavage au Magnésium (Solution C)

Même solution que la précédente.

Mais le pH est ajusté à 8.7 - 8.8 avec HCl 2N.

Solution de thyroxine à 1 mg/ml

Diluer simplement la solution Stock au 1:1

5) Minutage et conduite de l'expérience

a) Préparation préalable des membranes de dialyse.

- Couper les sacs et les laver de façon répétée dans l'eau bidistillée désionisée (ce qui remplace le lavage à l'acide nitrique)
- Les placer ensuite et les conserver dans l'eau désionisée à 4° C.

b) Préparation préalable des solutions A, B et C.

Jour 1 -

1) Avant usage, les sacs de cellulose sont séchés à la température du laboratoire pendant 3 heures environ, de façon que le séchage ne soit pas excessif, ce qui est à l'origine de fuites. A l'occasion on utilise un sèche-cheveux.

2) Préparer les échantillons pour l'expérimentation.

15 ml d'un pool de sérum sont préparés comme contrôle. On leur ajoute 1.5 ml de la solution de thyroxine radioactive diluée au 1/25. On prend 3.5 ml de l'échantillon à tester, et on y ajoute

0.3 ml de solution de thyroxine radioactive. On laisse les tubes 30 minutes.

Sérum artificiellement toxique de contrôle : on transfère dans un autre tube 5 ml du pool de sérum et on y ajoute 25 micro-litres de la solution de thyroxine à 1 mg/ml pour obtenir une concentration finale de 500 mcgr.%. Ce sérum artificiellement toxique donne un taux approximativement dix fois plus grand que le sérum de contrôle.

- 3) Préparer les sacs. Pendant qu'ils sont humides, on les scelle à un bout par un noeud plat. On les teste pour voir s'ils ne fuient pas, et on les place dans une série de tubes de polypropylène (qui remplacent les tubes de nitrate de cellulose) de 50 ml. On ne place pas de bille de verre à l'intérieur du sac à dialyse.
- 4) Prendre 0.5 ml du sérum marqué pour constituer un original. Si l'on double ou triple les mesures, on a besoin d'un seul original. On pipette ce demi-ml dans un tube à compter et on amène le volume à 1 ml avec de l'eau ou de la solution physiologique. Replacer les originaux au réfrigérateur.
- 5) Pipetter 3 ml de chaque sérum dans un sac. Laisser en suspens quelques minutes pour vérifier qu'il n'y a pas de fuite.
- 6) Pendant ce temps placer dans une autre série de tubes de nitrate de cellulose 5 ml de tampon isotonique additionné de Merthiolate au 1 : 10.000. Ensuite il faut transférer les sacs dans cette seconde série de tubes. Le tampon va complètement submerger le sac au-dessus du niveau du sérum. Fermer les tubes avec un bouchon de polypropylène. Placer les tubes dans le bain mélangeur et les y laisser jusqu'au lendemain matin à une température constante de 37°C. Ce bain doit être agité à la cadence de 120 aller-retour à la minute.

Jour 2 -

- 7) Après 18 à 20 heures sortir les tubes du bain. Transférer 3 ml de dialysat limpide dans un tube à compter.
- 8) A chaque tube ajouter 2 ml de solution de thyroxine à 1 mg/ml. Mélanger soigneusement avec un mixer rotatif.
- 9) Ajouter 1 ml de solution de précipitation au Magnésium. Un précipité blanc apparaît. Mélanger comme ci-dessus.
- 10) Après ce nouveau mélange, les tubes sont placés dans une centrifugeuse de table pour la centrifugation initiale. Après 10 à 15

minutes à vitesse moyenne, le précipité est condensé au fond du tube, et le surnageant, que l'on élimine, est limpide.

- 11) Laver le précipité 3 fois avec la solution de lavage au Magnésium par quantités de 5 ml. Rejeter à chaque fois le surnageant.
- 12) Après la centrifugation finale, on compte les cpm du précipité seul, qui occupe un volume d'1/2 à 1 ml, dans un compteur gamma Nuclear-Chicago Type 4233. On compte en même temps l'original préparé au 4).

Calcul du pourcentage et de la concentration de thyroxine libre.

Le précipité contient toute la thyroxine libre de 3 ml de dialysat. Puisqu'il s'agit d'une réaction d'équilibre, on compare sa radioactivité avec celle de la thyroxine de 3 ml de sérum marqué initial. Cette dernière est préalablement corrigée du pourcentage d'iode contenu dans le traceur, obtenu par le résultat de la chromatographie sur papier ou sur plaque mince. D'où : Pourcentage de T_4 libre =

$$\frac{\text{CPM du précipité} \times 100}{\text{CPM de 3 ml de sérum initial}}$$

Pour obtenir la concentration de thyroxine libre, exprimée en iode thyroïdien libre total, il suffit de multiplier le pourcentage de T_4 libre par le PBI. On pourrait également utiliser soit le BEI, soit la mesure de la T_4 totale.

Chromatographie des traceurs radio-actifs

a) sur papier :

Elle est effectuée sur papier WHATTMANN N° 3MM. C'est une chromatographie ascendante bidimensionnelle, à l'obscurité, les 2 solvants successifs étant :

- 1) le mélange butanol-acide acétique-eau (78:10:12) pendant 24 heures.
- 2) le mélange butanol-éthanol-ammoniaque(100:20:40) pendant 24 heures.

On applique à l'origine :

- 25 μ l de traceur à analyser.
- 25 μ l de sérum humain.
- 50 μ l d'un mélange entraîneur éthanol- NH_4OH (3:1) contenant 50 μ g de chacun des composés suivants : MIT, DIT, T_3 , T_4 et iodure sous forme de NaI.

TABLEAU I - Résultats de la mesure de la thyroxine libre.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de la T_4 totale ou en valeurs absolues. Les malades hospitalisés étaient cliniquement euthyroïdiens et sans trouble métabolique important.

SUJETS		% de T_4 sous forme libre	T_4 libre en ng/100 ml
- Normaux	N = 81	0.025 $\pm$ 0.004	1.56 $\pm$ 0.27
Hommes	N = 23	0.0239 $\pm$ 0.0035	1.55 $\pm$ 0.23
dont Femmes	N = 58	0.0258 $\pm$ 0.0043	1.56 $\pm$ 0.28
- Malades hospitalisés	N = 64	0.033 $\pm$ 0.010	2.06 $\pm$ 0.54
- Hyperthyroïdiens	N = 14	0.052 $\pm$ 0.011	8.86 $\pm$ 3.54 (5 à 15.4)
- Hypothyroïdiens	N = 8	0.0186 $\pm$ 0.003	0.25 $\pm$ 0.05

La coloration est effectuée par l'acide sulfanilique dinitré (acide sulfanilique 0.5% 2 volumes ; Na NO_2 5% 1 volume) pour les thyronines et les tyrosines , et par le chlorure de palladium 0.4% pour l'iode.

Une radioautographie est pratiquée sur film Kodak sans-écran pour Rayons-X afin de permettre le repérage des spots radio-actifs, qui sont découpés et comptés dans le compteur gamma Nuclear-Chicago.

b) sur plaque mince :

C'est une chromatographie ascendante sur plaque mince de gel de silice, uni-dimensionnelle, effectuée en chambre GELMAN. Le solvant utilisé est un mélange constitué de :

- Alcool amylique tertiaire saturé de NH_4OH	85 ml
- Hexane	5 ml
- Dioxane	5 ml

La durée de la chromatographie est de 90 minutes.

RESULTATS ET COMMENTAIRES.

Le Tableau I et la Figure III résument les résultats que nous avons obtenus dans la mesure de la thyroxine libre du sérum de 81 sujets normaux, de 64 malades hospitalisés, de 14 hyperthyroïdiens et de 8 hypothyroïdiens. Six mesures sur un même sérum effectuées le même jour nous ont donné une variation de 5 % environ. Des mesures faites sur un même pool de sérum, mais dans des expériences différentes, donnent un coefficient de variation de 10 à 15 % au maximum. Le Tableau II permet de situer nos résultats, en résumant les chiffres donnés par les auteurs qui ont déjà publié sur la thyroxine libre.

Nous réservant de revenir plus loin sur le choix du traceur radio-actif employé, disons d'emblée que la procédure de dialyse elle-même ne nous a pas posé de problèmes importants. Nous avons suivi la méthode de STERLING et BRENNER, et obtenu des résultats similaires malgré les modifications techniques mineures employées. En particulier, le mélange dans l'incubateur animé d'un mouvement de va et vient à la cadence de 120 aller-retour à la minute, se fait de

TABLEAU II

Résultats des Publications concernant la T₄ libre normale.

AUTEURS ET ANNEE	T ₄ libre en % de T ₄ totale	T ₄ libre en ng/100 ml	Particularités techniques
Oppenheimer et Al. - 1963	0.0277 ± 0.0029	2.34 ± 0.29	1
Ingbar et Al. - 1965	0.050 ± 0.009	4.03 ± 1.08	2
Sterling et Brenner 1966	0.046 ± 0.005	4.21 ± 0.76	3
Inada et Sterling - 1967	0.042 ± 0.006	3.91 ± 0.76	3
Schussler et Plager - 1967	0.026 ± 0.004	2.10 ± 0.40	4
Braverman et Al - 1968	0.017 ± 0.002	1.37 ± 0.24	2 et 4
Arango et coll. - 1968	0.040 ± 0.001	2.82 ± 0.11	3

1 - Sérum dilué au 1/150ème. Résultats corrigés après précipitation par l'acide Trichloracétique.

2 - T₄ captée par du sérum ajouté au dialysat, puis l'iode est enlevé par dialyse contre de l'Amberlite IRA 400.3 - T₄ est précipitée par le chlorure de Magnésium.

4 - Traceur purifié par dialyse préparatoire.

façon satisfaisante, si bien qu'il est inutile d'utiliser une bille de verre à l'intérieur du sac à dialyse ; d'autant que le fait que la thyroxine est adsorbée par les parois de verre peut constituer un facteur de variation éventuel.

Précipitation de T_4 et T_3 par le $MgCl_2$:

La réaction de précipitation au magnésium ainsi que les lavages qui la suivent ont fait l'objet d'études attentives. LARDY (166) a décrit la combinaison du magnésium avec la molécule de thyroxine comme la formation d'un chélaté dans lequel trois molécules de T_4 se combinent avec un ion magnésium à un pH compris entre 8.5 et 9.0. Le produit de solubilité du chélaté est de 10^{-17} . Nous avons recherché quel est le pourcentage de recouvrement des cpm de la thyroxine radio-active en nous plaçant dans les conditions exactes de la mesure de T_4 libre, et en remplaçant simplement les 3 ml de dialysat par 3ml de tampon phosphate isotonique. Le Tableau III montre les résultats obtenus après le troisième lavage. Le recouvrement est supérieur dans tous les cas à 95 % après correction du pourcentage d'iode contenu dans le traceur, comme on le fait dans le calcul du pourcentage de T_4 libre.

LARDY (166) affirme d'autre part que, à l'opposé de ce qui se passe avec la thyroxine, il n'y a pas de formation de chélaté entre ions magnésium et triiodothyronine. Contrairement à cette hypothèse, nous avons vérifié que la T_3 stable se combine avec le magnésium pour former un chélaté d'aspect identique et quantitativement équivalent à celui qui se forme avec la thyroxine. Avec la triiodothyronine radio-active, comme on peut le voir dans le Tableau III, le pourcentage de recouvrement de la radio-activité, quoique légèrement inférieur à celui de T_4 , est néanmoins supérieur à 90 % après correction de l'iode. Il est donc logique de s'attendre à ce que la précipitation par le magnésium ait pour résultat d'augmenter le pourcentage de thyroxine libre de la fraction libre de T_3 qui précipite avec T_4 , lorsque le traceur utilisé contient une proportion notable de triiodothyronine. Nous reviendrons sur ce point à propos du choix du traceur.

Effets de la température sur la précipitation de T_4 :

Nous avons étudié la précipitation par le magnésium en fonction de la température à laquelle s'effectue la réaction, et ceci entre 6°C et 50°C. En effet, contrairement à ce qui se passe pour un précipité

TABLEAU III

Pourcentages de récupération de la radioactivité
par la précipitation au Magnésium suivie de trois lavages du précipité.

$T_4 - I^{125}$ Abbott (Lot T x 5 - 061 - 9)

Activité spécifique : 144 mc/mg

Dilution 1/200ème

	% absolu des cpm récupérés après traitement	% après correction de l'iode (3.3%)
1	93.25	96.44
2	92.20	95.35
3	92.85	96.02
4	93.16	96.33
5	94.16	97.37
6	91.81	94.94
Moyenne	$92.9 \pm 0.9 \%$	$96.1 \pm 0.96 \%$

$T_3 - I^{125}$ Abbott (Lot Th 5-034 - 16)

Activité spécifique : 246 mc/ml

Dilution 1/200ème

	% absolu des cpm récupérés	% après correction de l'iode (2.6%)
	90.15	92.50
	90.31	92.65
	91.35	93.72
	89.79	92.02
	87.57	89.84
	89.90	92.24
	$89.8 \pm 1.2 \%$	$92.16 \pm 1.28 \%$

proprement dit, dont l'insolubilité est augmentée lorsque la température s'abaisse, la formation d'un chélaté est une réaction active où l'effet de la température peut s'exercer dans un sens différent (303) *

Il nous est ainsi apparu que le recouvrement de la thyroxine peut ne pas être complet à 6°C. Il est par contre supérieur à 95 % lorsque la réaction a lieu à la température du laboratoire, entre 23 et 25°C. Le chélaté obtenu après centrifugation précoce est alors compact, dur, difficilement friable. Il occupe un volume d'environ un demi-ml à un ml.

Si l'on attend quelques heures après la précipitation avant de centrifuger, le chélaté fait plus que doubler de volume, mais devient en même temps plus friable. Ce manque de cohésion, cette fragmentation plus facile sont obtenus beaucoup plus rapidement si l'on précipite à une température de 30, 40 ou 50° C, et correspondent fort probablement à une hydratation importante du chélaté. Même dans ces conditions, le recouvrement reste satisfaisant ; cependant la conséquence en est un risque de perte au moment des lavages, et peut-être une redissolution partielle, si bien que la marge d'erreur s'accroît d'un tube à l'autre (Tableau IV).

Au total, la réaction semble se faire de façon idéale à la température du laboratoire. Après un mélange soigneux, il convient de commencer la centrifugation initiale dans un délai qui n'excède pas cinq à quinze minutes après la précipitation.

Solubilisation de la thyroxine stable.

Il nous faut attirer l'attention sur certains problèmes de solubilisation de la thyroxine «froide» ou stable employée pour enrichir le dialysat avant précipitation, et servir d'entraîneur à la thyroxine marquée qui a traversé la membrane de dialyse. On utilise habituellement une préparation de sel de sodium de thyroxine pentahydraté, en solution à

* Dans la formation des chélates par ions métalliques, toutes les constantes des équations de base sont thermo-dépendantes. Cependant les dépendances ne sont pas toutes de même direction et de même ordre de grandeur , et toute prédiction en est rendue délicate. Il convient donc de déterminer le sens de l'action de la température pour chaque chélaté, s'il y a lieu.

TABLEAU IV

Effets de la température de précipitation et de lavage

Température de précipitation et de lavage	6° C	23° C	40° C	50° C
3 ml de dialysat avant précipitation	55, 104 55, 650	54, 865 55, 677	54, 833 55, 337	54, 570 54, 793
Précipité après le troisième lavage	2, 860 + 43 2, 390 + 52	2, 886 + 36 2, 738 + 39	2, 313 + 16 2, 464 + 46	2, 406 + 34 2, 430 + 35
% de thyroxine libre	0. 0380 0. 0318	0. 0383 0. 0363	0. 0306 0. 0326	0. 0318 0. 0323
Aspect et volume du précipité	0. 5 à 1 ml non hydraté friable	0. 5 à 1 ml dur et compact	+ 2 ml hydraté friable	+ 2 ml hydraté friable

1 mg/ml dans NaOH 0.066 M. Même si l'on utilise pour dissoudre la thyroxine en poudre des concentrations en base trois et six fois plus élevées, la dissolution de la T_4 de certaines marques commerciales * peut ne pas être totale, et ne se faire qu'après chauffage de la solution à 50°C pendant 2 à 3 heures. Les mesures de T_4 libre seront alors faussées par des écarts de résultats, atteignant 20 à 30 %, alors que deux mesures conjointes ne diffèrent jamais de plus de 10 % dans les conditions normales. Au contraire, la solubilité d'autres préparations ** est obtenue d'emblée, et complètement, avec les concentrations basiques énoncées plus haut.

Effet du nombre de lavages.

En annexe à ce que nous venons de dire sur la solubilisation de la thyroxine stable, nous avons eu certains ennuis au début de notre expérimentation avec une solution de thyroxine imparfaitement solubilisée. Outre les écarts de résultats obtenus, la poursuite des lavages au-delà du troisième ne nous donnait pas un plateau stable du nombre de cpm qui continuait à décroître de façon modérée, mais continue, jusqu'au septième lavage (Figure 1). Il pouvait alors sembler nécessaire de faire plus de trois lavages.

Le problème de solubilisation résolu, nous avons définitivement arrêté notre choix sur un nombre limitatif de trois lavages successifs du chélaté. En effet, la figure I montre qu'au troisième lavage on entre dans un plateau stable qui prouve que le précipité est lavé de façon satisfaisante, si bien que le nombre de cpm ne décroît pratiquement pas si l'on continue les lavages au-delà du troisième.

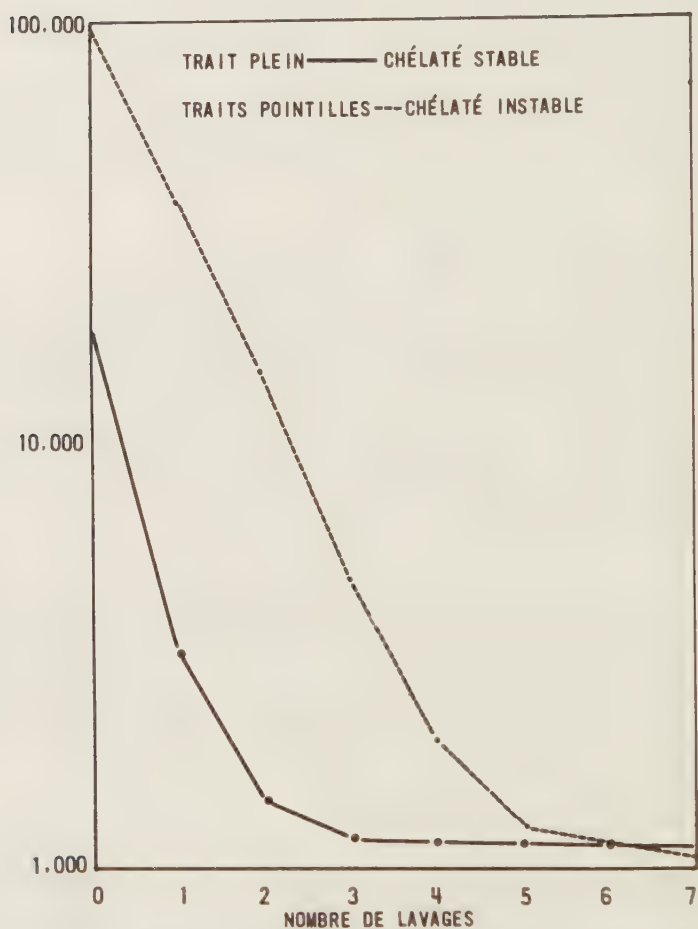
Choix et emploi du traceur radio-actif.

Une étude de VOLPERT et collaborateurs (370) a montré que les préparations commerciales de thyroxine marquée à l'iode 131 contiennent fréquemment des proportions parfois importantes d'impuretés radio-iodées, telles que l'iode et surtout les thyronines : T_3 et T'_3 (ou 3,3',5' triiodothyronine). Ceci conduit à surestimer le pourcentage de thyroxine libre, puisque la fraction de ces thyronines non combinée aux protéines est beaucoup plus importante que pour T_4 .

* SIGMA Chemicals. (lot 88B - 0810)

** MANN Research.

FIGURE 1 ÉVOLUTION DU NOMBRE DE CPM DU PRÉCIPITÉ EN FONCTION DES LAVAGES.



EN TRAIT PLEIN, LA COURBE DE DÉCROISSANCE DE LA RADIOACTIVITÉ D'UN CHÉLATÉ SIGNIFICATIF SELON LE NOMBRE DE LAVAGES.

EN TRAIT POINTILLE, COURBE ÉQUIVALENTE D'UN CHÉLATÉ INSTABLE PARCE QUE FORMÉ À PARTIR DE THYROXINE IMPARFAITEMENT SOLUBILISÉE.

TABLEAU V

Chromatographie de cinq lots de T₄ - ¹²⁵I Abbott pure.

Résultats en % de la radioactivité totale	Lot T x 5 - 056 - 5 Activité Spécifique 30.3 mc/mg	Lot T x 5 - 059 - 7 Activité Spécifique 102 mc/mg	Lot T x 5 - 061 - 9 Activité Spécifique 144 mc/mg	Lot T x 5 - 064 - 21 Activité Spécifique 141 mc/mg	Lot T x 5 - 022 - 19 Activité 284 µC/ml
Origine	0.25	0.20	0.14	0.20	0.10
Iode	1.72	2.36	3.30	3.70	4.35
MIT - DIT	0.19	0.09	0.07	0.15	0.22
T ₄	94.18	92.21	92.68	88.13	92.23
T ₃	3.65	5.12	3.80	7.82	3.10

Plusieurs auteurs ont déjà montré que, soit par la purification de la $T_4^{-131}I$ par dialyse préparatoire du traceur (300, 370), soit par l'emploi de $T_4^{-125}I$, on obtient des pourcentages de T_4 libre moins élevés et nettement inférieurs à 0.050 %. Les résultats obtenus après purification de la $T_4^{-131}I$ sont assez comparables à ceux obtenus par l'emploi de $T_4^{-125}I$, car celle-là se révèle contenir beaucoup moins de thyronines autres que T_4 à la chromatographie (300, 370, 299).

C'est la raison pour laquelle nous avons préféré utiliser la thyroxine marquée à l'iode-125, qui a l'avantage supplémentaire de pouvoir être employée pendant 4 à 5 mois. Le lecteur trouvera dans le Tableau V les résultats de l'analyse chromatographique de plusieurs lots de $T_4^{-125}I$. Il convient de remarquer à ce propos que le pourcentage de T_3 contenu dans la $T_4^{-125}I$ varie assez largement d'un lot à l'autre : de 3.1 à 7.8 % dans notre échantillonnage. Dans ces conditions, nous avons pu vérifier que le résultat de la mesure de la thyroxine libre pouvait être anormalement élevé lorsque la proportion de T_3 était importante, comme on pouvait s'y attendre étant donné que la précipitation par le magnésium recouvre plus de 90 % de la triiodothyronine présente.

Pour se faire une idée de l'importance du phénomène, supposons un dialysat idéal tel que T_4 libre représente 0.026 % de la thyroxine totale (300) et T_3 libre 0.46 % de la T_3 totale (218). Etudions-le avec des traceurs théoriques contenant des proportions progressivement croissantes de T_3 et donc progressivement décroissantes de T_4 , à côté d'une quantité constante de 4 % d'iode et de tyrosines. La figure 2 nous permet ainsi d'évaluer le nombre de cpm du précipité final respectivement attribuables à T_4 et T_3 libre. Cette courbe purement théorique montre que 3 à 4 % de T_3 sont la limite supérieure au-delà de laquelle le pourcentage de T_4 libre va augmenter significativement et sortir de la gamme des valeurs normales.

Sans prétendre donner une limite supérieure valable, notre expérience nous a permis de conclure qu'un taux de 4 % ou davantage de T_3 dans le traceur élevait de façon significative nos résultats. A titre d'exemple, le tableau VI donne les résultats de 9 mesures de T_4 libre sur des sérums normaux différents, mais enrichis avec un traceur contenant 5.1 % de T_3 et donnant une augmentation de la

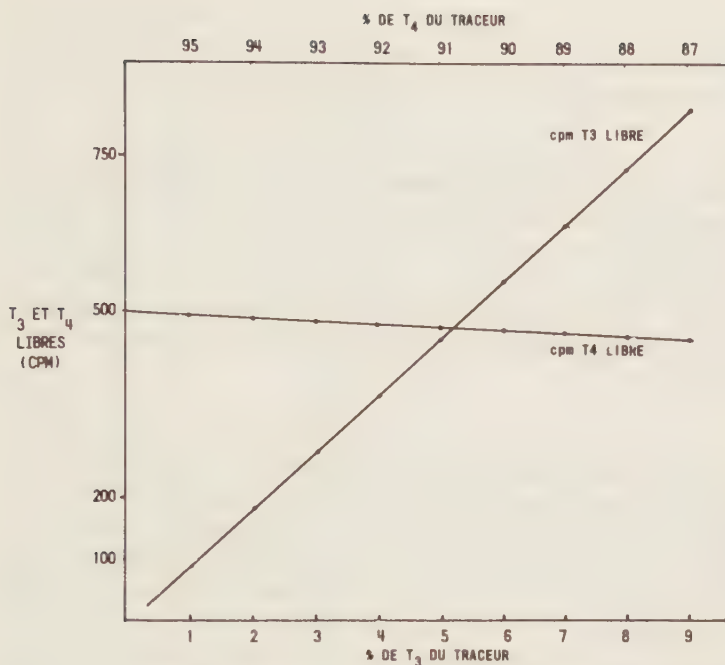


FIGURE 2. EVOLUTION THEORIQUE DES CPM D'IODOTHYRONINES RADIOACTIVES DANS LE DIALYSAT EN FONCTION DE LA CONTAMINATION DU TRACEUR PAR T₃.

TABLEAU VI

Effets sur le % de T₄ libre de l'emploi d'un traceur (★) contenant 5.1 % de T₃ et donnant une augmentation de la concentration d'hormone de 3 μ g/100ml.

	T ₄ libre en % de T ₄ totale
11 sujets normaux	0.053 % $\pm$ 0.0045 %
3 hyperthyroïdiens	0.084 % $\pm$ 0.0016 %

★ Lot T x 5 - 059 - 5, composition donnée dans le tableau IV

concentration d'hormone totale de $3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Les pourcentages de thyroxine libre correspondants ont été de $0.053 \pm 0.0047\%$, soit significativement plus élevés que nos résultats habituels (cf. tableau 1).

STERLING et BRENNER (323) chiffrent à $3 \mu\text{g}/100\text{ml}$ la limite supérieure à ne pas dépasser dans l'augmentation de la concentration d'hormone produite par l'addition du traceur. Les activités spécifiques élevées que l'on a actuellement, permettent d'abaisser cette limite à $2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de façon usuelle. En effet, du fait de la baisse des chiffres due à l'emploi d'un traceur plus pur, la marge d'erreur à $3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ est plus importante et susceptible de devenir supra-liminaire.

On dilue le traceur avec une solution d'albumine à 0.125% en tube de polypropylène pour éviter l'adsorption de molécules à la paroi. Nous avons employé, avec de bons résultats, des solutions d'albumine en poudre, qu'elle soit d'origine humaine ou bovine. Par contre, des modifications importantes du transport des hormones thyroïdiennes ont été provoquées par l'emploi d'une solution désodée d'albumine à 25 %, préparée pour perfusion intraveineuse en thérapeutique humaine *. « In Vitro », en effet, après marquage du sérum avec du traceur dilué dans cette albumine à 0.125 %, on pouvait observer de façon constante un double effet surprenant :

- d'une part, une inhibition quasi-totale de la fixation de T_4 sur la protéine fixatrice principale, c'est-à-dire TBG (ou « transthyroxine ») ;
- d'autre part, une désiodation importante de T_4 en T_3 , réaction assez lente, contrairement à la précédente, se produisant progressivement au cours des semaines qui suivaient la dilution du traceur, jusqu'à complète disparition de T_4 , alors que la conservation du traceur pur est bonne à 4°C et à l'obscurité pendant 2 à 3 mois. Le Tableau VII met ces faits en évidence grâce aux résultats de la chromatographie du traceur. Il en résultait des valeurs nettement plus élevées pour la T_4 libre. Nous tentons actuellement de connaître la nature du corps responsable de cette double action. **

* Fournie gracieusement par la Croix-Rouge Canadienne.

** L'albumine de cette solution est dissoute dans un solvant contenant de l'acétyltryptophanate de Na, 0.02 M, et du caprylate de Na 0.02 M.

TABLEAU VII

Thyroxine I - 125 Abbott
 Lot T x 5 - 056 - 5
 Activité spécifique 30.3 mc/mg

Chromatographie bidimensionnelle

1) B. Ac. 2) B. E. A. pendant 24 heures

Fractions	15/9 <u>TRACEUR PUR</u>	25/9 Dilué dans l'Albumine désouée pour perfusion	8/10 Dilué dans l'Albumine Bovine en poudre - 0.125 %
Origine	0.25 %	7.18	0.53
Iode	1.72 %	5.52	5.90
Mit-Dit	0.19 %	0.67	0.47
T3	3.65 %	67.29	3.69
T4	94.18 %	8.58	89.29
Composé X	-	10.74	-

Effets comparés sur les résultats de la chromatographie d'un traceur de la dilution en albumine humaine pour perfusion I. V. (0.125 %) et en albumine bovine en poudre (0.125 %).

Valeurs de T_4 libre observées.

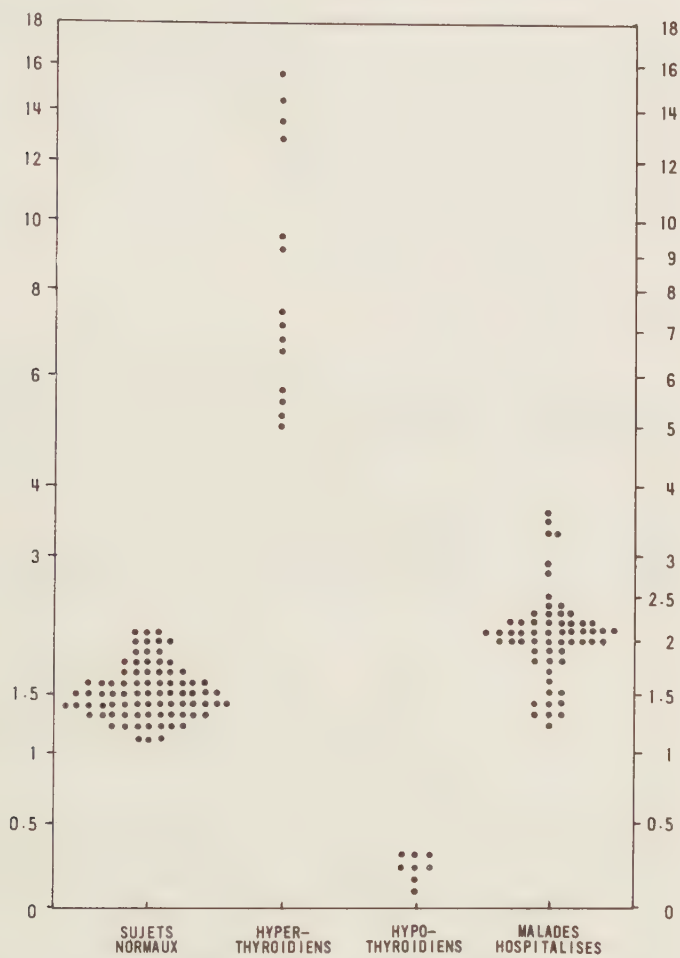
Nos résultats révèlent une démarcation nette entre les valeurs de T_4 libre des sujets normaux, les hypothyroïdiens et les hyperthyroïdiens. Malgré un écart-type élevé pour les hyperthyroïdiens, tous les résultats se situent au-delà de 5 ng/100 ml, ce qui dépasse nettement la limite supérieure des normaux ou des malades euthyroïdiens hospitalisés. Chez ces malades, nous avons noté, comme beaucoup d'autres, des taux légèrement élevés de T_4 libre qui ne se rapprochent toutefois pas des valeurs observées dans l'hyperthyroïdie. Ces sujets n'étant pas porteurs de troubles métaboliques, nous n'avons pas d'explication valable pour cette discordance.

Il convient d'expliquer pourquoi nos résultats sont significativement plus bas que ceux de STERLING et BRENNER, malgré le fait que la méthode n'a subi que des modifications mineures (% moyen obtenu = 0.025 % contre 0.042 %). Le point important de notre étude semble le fait que la T_4 - ^{125}I , bien qu'à un moindre degré que la T_4 - ^{131}I , est susceptible de contenir un pourcentage suffisamment important de T_3 pour élever significativement le résultat des mesures. Nous-mêmes avons eu des résultats semblables à ceux de STERLING, mais avec un traceur contenant 5% de T_3 . D'autre part, les résultats que nous présentons ont été obtenus avec des traceurs contenant environ 3 % de T_3 à la chromatographie, c'est-à-dire les plus purs que l'on puisse obtenir de source commerciale. De plus, les résultats ainsi obtenus sont du même ordre que ceux de SCHUSLER et PLAGER (300) qui emploient un traceur préalablement purifié par dialyse préparatoire. Ainsi l'abaissement de nos résultats s'expliquerait par l'utilisation de traceurs purifiés, sans nécessité de faire une dialyse préparatoire. Il y aurait lieu de penser sur la base de ces données que le % normal de thyroxine libre pourrait se situer un peu plus bas, soit aux environs de 0.020 % ou un peu moins, chiffres d'ailleurs obtenus par les travaux récents de SCHUSLER et PLAGER.

Ainsi la méthode de STERLING et BRENNER permet-elle d'apprécier le taux d'hormone libre en tant que thyroxine, en multipliant le pourcentage obtenu par le résultat de l'hormonémie totale tirée du PBI, du BEI, ou de la mesure de la thyroxine totale. Bien entendu, le sérum contient aussi de la triiodothyronine, mais en faible proportion en regard de celle de T_4 , puisqu'elle n'atteint vraisemblablement que 5% des hormones sériques totales dans les conditions normales. Cependant, on sait que la triiodothyronine est fixée dans une

FIGURE 3: TABLEAU COMPARATIF DES VALEURS DE T_4 LIBRE
DANS DIVERS ETATS METABOLIQUES:

T_4 LIBRE ng/100ml



- NORMAUX	1.56 ± 0.27 ng/100 ml
- HYPERTHYROIDIENS	8.86 ± 3.54
- HYPOTHYROIDIENS	0.25 ± 0.05
- MALADES HOSPITALISES	2.06 ± 0.54

moindre mesure que T_4 par les protéines sériques et qu'en particulier n'est pas du tout fixée par TBPA. Ainsi la proportion de T_3 libre est-elle bien plus élevée que pour T_4 , et il pourrait être nécessaire de l'apprécier par une mesure séparée (218, 27, 28).

Au total, le dosage de la thyroxine libre semble être en passe de devenir un élément important du bilan thyroïdien paraclinique. Sans avoir de valeur absolue par lui-même, il revêt toute sa signification lorsqu'on l'intègre à l'ensemble des données résumant l'élaboration hormonale, le transport sanguin, et l'utilisation tissulaire périphérique des hormones thyroïdiennes. Il a en outre l'intérêt de varier parallèlement au niveau métabolique de l'individu dans un bon nombre d'affections pathologiques.

RESUME

L'auteur rapporte son expérience avec la détermination de la thyroxine (T_4) libre du sérum humain. La technique est une modification de celle de Sterling et Brenner. Après dialyse du sérum, la précipitation de la T_4 par la magnésium est satisfaisante à 23°C , en autant qu'une bonne solubilisation de l'entraîneur de T_4 stable ait été réalisé. La centrifugation doit d'accomplir tôt après la réaction de précipitation, et trois lavages du précipité suffisent à l'en débarrasser des impuretés.

Le traceur de T_4 - ^{125}I contient des pourcentages variables d'iodure - ^{125}I et de T_3 - ^{125}I . L'albumine bovine ou humaine peut être utilisée indifféremment pour sa dilution. Etant donné la présence d'une réaction de précipitation entre la T_3 - ^{125}I et le magnésium, on observe des valeurs de T_4 libre faussement élevées quand le pourcentage de T_3 - ^{125}I représente 4 % ou plus de la radioactivité du traceur. L'emploi d'un traceur d'une activité spécifique telle que son addition au sérum à analyser n'augmente pas sa teneur en hormone de plus de $2\text{ }\mu\text{g}/100\text{ ml}$ permet les meilleurs résultats.

Avec ces précautions, on obtient un taux normal de T_4 libre de $1.56 \pm 0.27\text{ ng}/100\text{ ml}$, soit $0.025 \pm 0.004\%$ de la thyroxine totale. Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus après purification préalable du traceur radioactif, et confirment l'hypothèse que les valeurs plus élevées notées dans d'autres laboratoires semblent provenir de la contamination du traceur par des impuretés.

C H A P I T R E I V

MESURE DES CAPACITES DE FIXATION DES PROTEINES VECTRICES DES HORMONES THYROIDIENNES

La faible concentration sérique de la transthyroxine et de la pré-albumine rendent très difficile leur estimation quantitative directe. Il faut donc recourir en clinique à des méthodes indirectes pour les apprécier, et avant tout à la mesure de la capacité maximale de fixation de chacune d'elles. Nous avons vu au chapitre II le principe de la méthode de saturation. Sur le plan proprement technique, plusieurs auteurs ont utilisé jusqu'ici diverses méthodes d'électrophorèse conventionnelle sur papier (141, 235), et surtout l'électrophorèse à courant renversé à la suite de Robbins (69, 263).

Mais l'électrophorèse sur papier a pour désavantage d'être une méthode assez longue ; c'est la raison pour laquelle nous avons essayé d'appliquer à la mesure de la capacité de saturation de TBG et TBPA un support tel que l'acétate de cellulose *, qui permet une excellente séparation des protéines sériques en un temps très court, de l'ordre d'une heure.

MATERIEL ET METHODES .

L'électrophorèse est conduite dans une cuve horizontale GELMAN en tampon glycine-acétate (glycine 0.2 M, Acide acétique 0.13 M) ajusté à pH 8.6 avec NaOH 50 % pour la mesure de TBG et TBPA.

1) Solutions

- tampon glycine - acétate pH 8.6
 - solutions de thyroxine stable :
-

* SEPRAPHORE III GELMAN

- Solution stock :

- L - thyroxine, 2mg par ml, dans un solvant constitué de KOH 0.4 M dans 4 % (volume) de 1,2 propanediol dans l'eau bidistillée et désionisée.

- Dilutions utilisées pour la mesure des capacités

- 50, 100 et 150 $\mu\text{g/ml}$ pour le calcul de la capacité maximale de la transthyroxine (CTBG) ;

- 500, 666 et 1,000 $\mu\text{g/ml}$ pour le calcul de la capacité maximale de la préalbumine (CTBPA),

préparées dans le même solvant à partir de la solution de stock et conservées en bouteille plastique brune.

Dans les cas normaux, TBG est toujours saturée avec 150 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ de T_4 et TBPA avec 600 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Des contrôles ont montré que le solvant est sans effets sur la répartition du traceur sur les protéines sériques.

- Traceur

Nous avons utilisé de la ^{125}I - T_4 diluée dans l'albumine humaine ou bovine à 0.125 %, et occasionnellement de la ^{131}I - T_4 diluée de la même façon au 1/2.

Chaque lot de traceur était vérifié chromatographiquement pour contrôler le pourcentage d'Iode et de T_3 qu'il contient inévitablement, mais en veillant à ce que aucun de ces composés ne représente plus de 5 % de la radioactivité totale.

2) Conduite de l'expérience

- Marquage du sérum

2 ml de sérum sont marqués avec 4 à 8 μl de solution de traceur dilué au 1/2 (selon l'activité spécifique du traceur). On prend note de l'augmentation correspondante de la concentration de

T_4 dans l'échantillon, qui ne dépasse pas 3 à 4 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

- Addition de la thyroxine stable

Après 15 à 30 minutes, le sérum est séparé en échantillons de 0.5 ml. A chacun d'entre eux on ajoute 5 μl de la solution de thyroxine stable appropriée. Cette opération est répétée pour chacune des concentrations de thyroxine stable à étudier durant l'expérience.

Le mélange de sérum et de thyroxine stable et marquée est mis en équilibre 15 à 30 minutes avant d'être appliqué sur les bandes.

- L'électrophorèse

Six ou huit bandes de Séraphore III, humidifiées uniformément par un séjour d'au moins 90 minutes dans le tampon glycine-acétate, sont disposées horizontalement dans la cuve à électrophorèse. A l'extrémité de chacune des bandes et du côté choisi comme origine on applique 3 microlitres du mélange défini ci-dessus.

La séparation est faite à 4° C sous voltage constant de 280 volts pendant 60 à 75 minutes. L'intensité du courant est de 20 mA en début d'expérience, en atteint en général 40-45 mA en fin d'expérience.

- Séchage - Radioautographie

Les bandes retirées de la cuve sont placées sur un cadre où elles vont sécher dans une étuve à 40° C pendant 2 à 3 heures.

Un radioautographie est pratiquée sur film Kodak sans-écran pour Rayons X, avec un temps de pose de 15 à 72 heures. Après développement du film, les radioautographies sont découpées et passées dans un densitomètre pour lecture d'électrophorèse, qui permet de déterminer graphiquement la proportion de traceur liée à chacune des trois protéines fixatrices, après intégration automatique de chacun des pics tracés par l'appareil. Un contrôle est effectué en découpant les bandes, soit en se guidant sur la radioautographie, soit après coloration par le ponceau. Les sections ainsi obtenues sont alors comptées séparément dans un compteur gamma Nuclear- chicago.

3) Calcul des capacités de saturation.

On calcule le pourcentage de traceur lié à chacune des trois protéines fixatrices. Pour obtenir la capacité maximale de fixation de TBG ou TBPA, il suffit de faire le produit du pourcentage lié à la protéine considérée par la concentration totale d'hormone présente dans la préparation (soit la somme de T_4 endogène mesurée par le PBI et de T_4 stable et marquée que l'on y ajouté) par unité de volume.

RESULTATS ET DISCUSSION.

La mesure de la concentration sérique de chacune des protéines fixatrices apparaît théoriquement comme la meilleure méthode d'évaluation des rôles respectifs de TBG, TBPA et de l'albumine dans un sérum donné. Elle est d'ailleurs possible depuis longtemps en ce qui concerne la sérum-albumine, mais celle-ci n'a qu'un rôle relativement mineur dans le transport sérique des hormones thyroïdiennes. Cette méthode de mesure directe a également été mise au point pour la TBPA par appréciation de l'intensité de la bande préalbumine-1 en électrophorèse unidimensionnelle sur gel d'amidon (237). Cependant elle est longue et peu pratique, et certains auteurs lui préfèrent la méthode de saturation (235). Enfin, en ce qui concerne TBG, la mesure de la concentration sérique ne paraît pas applicable : en effet la transthyroxine est mal séparable des autres protéines sériques, même à pH acide où pourtant il y a peu de protéines acides qui migrent vers l'anode (268) ; d'autre part sa concentration sérique est faible dans un milieu très riche en protéines comme l'est le plasma, et ce fait suffit à rendre sa mesure très difficile.

L'avenir dans ce domaine paraît résider dans la mise au point de méthodes radio-immunologiques de dosage de TBG et TBPA.

Un premier essai vient d'être publié par Woeber et Ingbar (380) pour la préalbumine, que l'on a pu purifier de façon satisfaisante depuis 1964 - 1965. Par contre la purification de la transthyroxine est toute récente (1968), et aucune méthode de dosage radio-immunologique n'a encore été mise au point.

En opposition avec ces méthodes directes, les méthodes « classiques » estiment indirectement les concentrations sériques de

TBG et TBPA par la mesure de la capacité de saturation de chacune de ces deux protéines. Par addition de thyroxine marquée au sérum et séparation électrophorétique des protéines, on peut mesurer la proportion de la thyroxine totale associée avec chaque protéine porteuse.

Si l'on ajoute au sérum des quantités croissantes de T_4 , on détermine ces proportions pour chaque concentration de T_4 totale; la capacité de saturation de TBG d'abord, puis celle de TBPA, sont atteintes lorsqu'on parvient à un plateau virtuel de la quantité de T_4 fixée par la protéine considérée (2, 270).

Sur le plan pratique, on se heurte à certaines difficultés techniques qu'il convient d'éliminer pour obtenir le vrai plateau de saturation. Elles tiennent à la technique de l'électrophorèse elle-même, et l'on doit éviter :

- la contamination de la zone de la transthyroxine (inter-alphaglobuline) par une « traîne » de T_4 liée à des molécules d'albumine ou de préalbumine ;

- la perte d'une fraction du traceur dans la zone de TBPA pour la même raison,

si bien qu'il convient d'employer un procédé d'électrophorèse dans lequel les artefacts dus à l'adsorption par le support sont réduits au minimum.

Dans ce but, de très nombreuses méthodes ont été présentées, et l'on peut citer brièvement :

- des méthodes d'électrophorèse « à courant direct », c'est-à-dire utilisant la migration conventionnelle des protéines vers l'anode induite par le courant électrique,

sur papier whattman (141, 171, 324)

ou en électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide (226).

- des méthodes d'électrophorèse « à courant renversé », (69, 137) à la suite de ROBBINS (263), où la migration protéique induite par le champ électrique s'oppose un déplacement en sens inverse

induit par un courant de solution tampon. Quand ces deux mouvements sont bien équilibrés, leur combinaison permet un déplacement en sens opposé de TBPA et TBG: TBPA va toujours vers l'anode, mais les globulines (dont TBG) se déplacent vers la cathode, alors que l'albumine ne migre pratiquement pas, et reste au voisinage du point d'application.

Les concentrations de thyroxine nécessaires pour saturer la Transthyroxine sont d'environ $100 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ en tampon tris-maléate ou glycine-acétate pH 8.6 (jusqu'à 200 dans les cas d'augmentation de TBG, et 50 seulement en tampon barbital où la liaison à TBPA est supprimée) ; pour saturer la préalbumine il faut environ $600 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ avec les mêmes tampons.

Les méthodes « à courant renversé » paraissent les meilleures pour la mesure de la capacité de saturation de la Transthyroxine, car elles suppriment la « traîne » des albumines à travers la zone des globulines. Nous avons vu qu'elles donnent une capacité maximale de TBG remarquablement stable chez le sujet normal, et égale à $22 + 2 \mu\text{g}$ de T_4 pour 100 ml de sérum (271, 339).

Au contraire, la méthode d'électrophorèse conventionnelle en tampon glycine-acétate de pH 9 (235) apparaît supprimer la perte d'une fraction de traceur dans la zone de TBPA, et donne un chiffre plus élevé pour la capacité maximale de la préalbumine qui est alors de $270 + 10 \mu\text{g}$ de T_4 pour 100 ml de sérum, chiffre double de celui obtenu par d'autres techniques (141).

Toutes ces techniques d'électrophorèse apparaissent relativement longues, la migration protéique demandant 16 à 24 heures. La lecture des résultats est le plus souvent faite par intégration des courbes données par un lecteur de bandes radioactives, alors que la séparation des diverses protéines sur papier whattman n'est pas toujours parfaite. Au total l'observation de nombreuses précautions techniques empêche de faire de ces méthodes un emploi de routine, et oblige à les réserver aux laboratoires de recherches.

C'est la raison pour laquelle nous avons entrepris d'évaluer l'intérêt pour la mesure des capacités de saturation d'un support moderne d'électrophorèse, le polyacétate de cellulose, qui permet une excellente séparation des protéines sériques en un temps

de migration très court, de l'ordre d'une heure. Nous avons retrouvé sur ce support la fixation désormais classique de la Thyroxine sur les trois zones pré-albumine, albumine et inter α_1 α_2 globuline. La radioautographie montre que la séparation des trois bandes radioactives est très bonne (figure 1).

Outre les avantages d'une excellente différenciation obtenue très rapidement, l'utilisation de la radioautographie et sa lecture directe au densitomètre, contrôlée par la section des bandes et le comptage, permet d'éliminer l'intégration des aires de radioactivité fournies par le lecteur de bandes radio-actives, qui nous est apparue comme une méthode longue, difficile car soumise à de nombreux aléas, et à tout prendre imprécise.

Cependant l'emploi de l'acétate de cellulose en électrophorèse conventionnelle souffre d'un défaut commun avec le papier whattman dans la même technique : aux concentrations de thyroxine supérieures à 100 microgrammes/100 ml apparaît une traîne de T_4 associée avec les albumines à travers la zone de TBG, ce qui donne pour la capacité maximale de la Transthyroxine une valeur faussement élevée. C'est de toute évidence la raison pour laquelle nous obtenons une CTBG de

$$\frac{30.1 \pm 4.8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}}{\text{pour une augmentation de } 100 \mu\text{g}/100 \text{ ml de la } T_4 \text{ stable, et une CTBG de}}$$

33.4 $\pm$ 6.4 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (14 mesures, sujets σ)

pour une augmentation de 150 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ de la T_4 stable, alors que nous avons vu qu'il est nécessaire d'atteindre ces concentrations pour que la transthyroxine soit complètement saturée.

D'où le fait que ces résultats sont significativement plus élevés que ceux obtenus en électrophorèse « à courant renversé » où CTBG = 22 $\pm$ 2 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$.

En ce qui concerne la capacité de saturation de TBPA, il n'y a bien sûr aucune traîne dans la zone pré-albumine, puisque celle-ci migre en avant de l'albumine. Il est donc possible de mesurer avec précision la capacité de saturation de la TBPA qui est de :



FIGURE 1 - Les trois protéines fixatrices des hormones thyroïdiennes dans un sérum normal ; de G. à D. , TBPA, Albumine, Transthyroxine (Radioautographie d'une bande de polyacétate de cellulose après électrophorèse du sérum marqué par $^{125}\text{I}-\text{T}_4$).

$119.6 \pm 18.7 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ (19 mesures, sujets ♂)
chez le sujet normal, que la mesure soit faite avec des augmentations
de concentration de T_4 totale de 500, 666 ou 1000 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$.

On peut toutefois noter que les chiffres obtenus par
notre méthode sont moins élevés que ceux donnés par OPPENHEIMER
et coll. (235).

Pendant notre expérimentation a été publié un travail
de MARSHALL et TOMPKINS (189), qui utilise également, quoi-
qu'avec une technique légèrement différente, le polyacétate de cellulose.
Ces auteurs obtiennent des résultats similaires aux nôtres dans leur
ensemble.

Nous regrettons de n'avoir pu, faute de temps, mener
à son terme une comparaison point par point avec la technique à
courant renversé sur papier Whattman. Cependant, si la gamme des
valeurs obtenues est plus étendue dans notre méthode, la reproducti-
bilité nous est apparue bonne, avec un coefficient de variation ne
dépassant pas 10 % d'une expérience à l'autre avec le même sérum ;
alors qu'au cours d'une même expérience deux bandes similaires ap-
portent des résultats qui diffèrent entre eux de moins de 5 %.

Alors qu'il n'y a aucune difficulté pour TBPA, la con-
dition qui doit être respectée pour comparer valablement les capa-
cités de TBG d'un sérum à l'autre, en raison des problèmes de traî-
ne qui se posent dans l'électrophorèse à courant direct, est de faire
cette comparaison entre deux capacités obtenues à une même con-
centration de thyroxine rajoutée au sérum. C'est la raison pour la-
quelle nous avons choisi d'effectuer la mesure des capacités de TBG
au cours du cycle menstruel (voir plus loin) à une concentration
constante de T_4 stable surajoutée de 150 μg pour 100 ml.

Au total, l'emploi de l'acétate de cellulose nous paraît
justifié par le fait que cette technique donne des résultats au moins
aussi satisfaisants que les méthodes sur papier Whattmann à courant
direct, avec une rapidité et une facilité technique bien plus considé-
rables, ce qui permet d'en étendre l'usage sur le plan pratique.

CHAPITRE V

TRANSPORT DES HORMONES THYROIDIENNES AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL ET EFFET SUR L'OVULATION

Il est désormais bien établi qu'il existe de nombreuses interactions entre hormones thyroïdiennes et hormones gonadiques. Une première évidence en a été la découverte des modifications survenant pendant la grossesse dans l'espèce humaine : l'hormone thyroïdienne totale (mesurée par le PBI) augmente de 50 % dès le premier mois et jusqu'à la fin de la grossesse (59, 60, 92, 118, 186). Après la délivrance elle chute rapidement, et revient à la normale en une à deux semaines (97). Cette augmentation de l'hormone totale correspond à une élévation avant tout du taux de T_4 sérique (61, 81, 185, 207), mais aussi de celui de T_3 (177).

Il semble que cette hausse importante de l'hormone totale soit due à une augmentation encore plus marquée de la concentration sanguine de la TBG, principale protéine sérique pour le transport des hormones thyroïdiennes ; cette augmentation est telle que sa capacité maximale atteint deux fois et demie sa valeur normale (67, 265, 338) ; alors que dans le même temps la liaison à TBPA reste inchangée jusqu'à la délivrance, où elle chute abruptement (140).

Le fait que la hausse du PBI soit inférieure à celle de la capacité de TBG n'est pas incompatible avec une concentration de thyroxine libre normale. Le pourcentage d'hormone libre est significativement abaissé, mais la concentration d'hormone libre calculée et mesurée expérimentalement est dans la limite des valeurs normales; la moyenne n'atteignant cependant que 70 à 85 % de la normale (145, 265, 363). La captation de T_3 ou T_4 par les érythrocytes ou

la résine (96,112,200,264) est diminuée, ce qui correspond bien à l'augmentation de concentration des sites de fixation inoccupés. Parallèlement le turn-over de T_4 est ralenti de façon significative (184).

Cette augmentation de la concentration de TBG a pu être rapportée à la sécrétion accrue d'oestrogènes au cours de la grossesse. Chez les femmes sujettes à de fréquents avortements, le PBI et la capacité de TBG n'augmentent pas ; ce qui semble indiquer une anomalie de la production des oestrogènes (224).

Nous avons entrepris cette étude des composantes du transport des hormones thyroïdiennes au cours du cycle menstruel normal, dans le but d'établir si les variations des hormones gonadiques suffisent à y entraîner des changements perceptibles, et inversement si d'éventuelles variations de l'hormonémie thyroïdienne pourraient entrer dans le déterminisme des différentes phases du cycle menstruel.

MATERIEL ET METHODES

- Sujets d'étude

Les mesures ont été faites chez 12 jeunes femmes normales euthyroïdiennes de 17 à 31 ans (moyenne 23 ans). L'étude du cycle menstruel a été effectuée pendant un cycle normal sur dix femmes, alors que nous avons étudié conjointement deux autres femmes prenant journellement des oestro-progestatifs dans un but anti-ovulatoire.

- Méthodes

Chaque sujet prenait sa température basale pendant toute la durée du cycle, afin de mettre en évidence l'existence d'une ovulation et d'un corps jaune en fonctionnement normal. Dans le même but, le prégnandiol urinaire a été dosé sur les urines des 24 heures prélevées trois jours avant et six jours après la date de l'ovulation. La durée des cycles s'échelonnait entre 26 et 34 jours ($M = 28.6$ j).

Les prélèvements sanguins ont été effectués au rythme de trois par cycle, à savoir = le premier au tout début des menstruations

(1er ou 2ème jour) ; le second en période oestrogénique pure, à la phase préovulatoire, soit au 10 - 11ème jour d'un cycle de 28 jours (10 à 14ème jour); le troisième en phase lutéale, quatre à six jours avant la date prévue pour le premier jour des menstruations à venir (21 à 28ème jour).

A chacune de ces étapes ont été mesurés le pourcentage et la concentration de thyroxine libre, la thyroxine totale (sur six sujets seulement), et la capacité maximale de fixation de TBG et de TBPA. Aux fins de comparaison, chaque série de mesures concernant un même sujet était faite simultanément au cours d'une même expérience.

Le pourcentage et la concentration de thyroxine libre ont été déterminés par la méthode de Sterling et Brenner (323) avec les modifications et précautions techniques décrites dans un travail antérieur (chapitre III). La concentration de thyroxine totale a été mesurée par la technique de Murphy et Pattee (207).

Les capacités maximales de fixation de TBG et TBPA ont été calculées par électrophorèse sur acétate de cellulose * en tampon glycine-acétate de pH 8.6 (chapitre IV). Pour la mesure de la capacité de TBG, on emploie des échantillons de 0.5 ml de sérum marqué auxquels on ajoute des quantités de 5 microlitres de thyroxine stable à 150 μg /ml, donnant une augmentation de concentration finale de 150 μg /100ml. Pour la mesure de la capacité de TBPA, on utilise de la même façon des concentrations de thyroxine stable de 500 et 666 μg /ml.

Les échantillons sont appliqués sur les bandes d'acétate de cellulose dans la chambre froide. La séparation est faite à 4°C sous voltage constant de 300 volts pendant 60 à 75 minutes. L'intensité du courant dans la cellule est de 25 mA en début d'expérience, et atteint en général 50 mA en fin d'expérience.

Après séchage des bandes, on les met en contact avec film Kodak sans écran pour Rayons X, et cette radioautographie a un temps de pose d'une nuit.

* Sepraphore III Gelman.

Les résultats, c'est-à-dire les pourcentages respectifs du traceur fixés sur TBG, TBPA et l'albumine aux différentes concentrations, sont déterminés par une méthode optique de lecture de la radioautographie dans un densitomètre à intégration automatique. Les pourcentages sont contrôlés par découpage des bandes et comptage des fragments dans un compteur gamma Nucléar-Chicago, la section est faite soit en se guidant sur la radioautographie, soit après coloration des protéines sériques par le Ponceau.

La capacité maximale de TBG est obtenue en multipliant le pourcentage fixé à TBG à la concentration 150 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ par la quantité totale d'hormone présente dans l'échantillon. Des contrôles sont effectués à la concentration 100 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. La capacité maximale de TBPA est calculée en faisant ce même produit en utilisant le pourcentage fixé à TBPA aux concentrations 500 et 666 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

RESULTATS ET DISCUSSION .

Il paraît certain que ce sont les oestrogènes qui entraînent les changements observés au cours de la grossesse au niveau de l'hormone totale et de la capacité de TBG. En effet, l'administration de diéthylstilboestrol à la dose de 30 mg/jour suffit à reproduire ces mêmes modifications en l'absence de grossesse (68 - 70). Cet effet est obtenu rapidement, puisqu'il est observable après une semaine de traitement (68) alors que la courbe de la demi-vie de T_4 subit un changement de pente perceptible après 2 à 3 jours de traitement (70). Les oestrogènes conservent leur effet chez les sujets sans thyroïde (63), et agissent aussi bien chez l'homme que chez la femme ; bien que l'effet soit plus net dans le sexe féminin (6, 79). En effet, les androgènes semblent avoir l'effet inverse de diminution du PBI et de la capacité de la transthyroxine (70, 80, 78). D'autre part, l'arrêt du traitement est suivi d'une diminution graduelle du PBI, qui revient à la normale en quatre semaines (6). Il semble donc clair que l'effet primordial des oestrogènes est d'entraîner une augmentation de la concentration sérique de sites fixateurs de la transthyroxine.

On peut rapprocher ces faits des travaux de Labrie et coll. (163, 164, 165) qui ont montré chez le rat que les oestrogènes

agissent sur la capacité de liaison de la Transcortine, protéine fixatrice principale du cortisol et la corticostérone, dont ils augmentent également le nombre de sites fixateurs par unités de volume de plasma. Dans ce cas cependant, leur rôle semble indirect en ce sens que la thyroxine semble intervenir comme médiateur entre les oestrogènes et leur effet sur la transcortine : elle augmente leur effet multiplicateur sur le nombre de sites sériques de transcortine, et à l'inverse la thyroïdectomie supprime complètement l'effet des oestrogènes sur la transcortine. Mais cet effet n'a pas été retrouvé chez l'homme.

Le fait à retenir de l'ensemble de ces travaux est qu'une augmentation du taux d'oestrogènes circulants agit, non pas sur l'ensemble des protéines, mais spécifiquement sur le groupe des glycoprotéines transporteuses d'hormones, en augmentant leur concentration sérique. Ces faits sont établis avec des taux d'oestrogènes assez élevés, tels ceux de la grossesse ; l'effet est rapide, perceptible en 2 à 8 jours, et semble promptement suivi d'une augmentation de la sécrétion des hormones fixées correspondantes par intervention du mécanisme de rétroaction hypothalamo-hypophysaire * pour compenser la baisse de la fraction hormonale libre qui résulte de l'augmentation de capacité des protéines fixatrices les plus spécifiques.

En ce qui concerne les variations hormonales observées au cours du cycle menstruel, elles sont évidemment de moindre importance, et nous avons cherché à établir si elles suffisaient à induire des changements perceptibles au niveau du transport des hormones thyroïdiennes. Il semble que divers travaux faits sur l'hormone thyroïdienne totale n'aient pas retrouvé de modifications bien systématisées à un moment quelconque du cycle de la femme. Une revue de RAPPORT et CURTIS (255) précise que plusieurs publications ont fait état d'une élévation de l'iode sanguin à la période pré-menstruelle et menstruelle. Cependant si la conclusion de ces travaux est intéressante, il faut considérer qu'ils ont été pratiqués entre 1927 et 1940, c'est-à-dire à une période où la technique d'analyse de l'iode sanguin étaient encore imparfaites, le PBI n'étant pas encore connu. Par la suite, divers travaux faits sur les variations du PBI au cours du cycle ont des résultats contradictoires qui montrent qu'il est difficile de retrouver une variation systématisée pendant le cycle menstruel.

* Cependant ceci n'est pas obligatoire, puisqu'on observe les mêmes modifications chez les sujets thyroïdectomisés et sous traitement substitutif (63).

TABEAU I

MESURES DE LA THYROXINE TOTALE A DIVERS MOMENTS DU
CYCLE MENSTRUEL CHEZ SIX FEMMES NORMALES

SUJET NUMERO	DEBUT DES MENSTRUATIONS	PHASE PRE- OVULATOIRE	PHASE LUTEINIQUE
125	7.0	5.6	4.4
126	10.1	6.3	7.7
128	4.7	6.8	6.8
129	7.7	6.1	5.8
130	5.8	5.3	4.6
131	6.9	7.5	5.6
Moyenne + Ecart-Type (T ₄ en µg/100ml)	7 ± 1.7	6.3 ± 0.7	5.8 ± 1.2

NS

NS

Cependant, MARGOLESE et GOLUB (190) montrent qu'il semble exister une variation cyclique du PBI jour par jour, et qu'au cours de la phase lutéale du cycle cette fluctuation journalière prend une allure différente de celle de la phase pré-ovulatoire, puisque les oscillations deviennent plus amples, alors que les valeurs obtenues pour le PBI ont tendance à être plus élevées.

Nous-mêmes avons dosé la thyroxine totale par la méthode de MURPHY et PATTEE chez 6 de nos sujets au début des menstruations, à la phase pré-ovulatoire et à la phase progestative (Tableau I). Ici encore, la moyenne des chiffres obtenus est légèrement plus élevée au moment des menstruations : cependant il n'y a pas de variation significative entre les trois échantillonnages, et les variations observées peuvent entrer dans la marge d'erreur de la méthode. C'est pourquoi pour le calcul de l'hormone libre nous avons pensé justifié de faire la moyenne des 3 valeurs de T_4 totale obtenues chez les sujets considérés.

Les résultats de la mesure de la thyroxine libre par la méthode de dialyse (Tableau II) ont au contraire montré qu'il existe des variations perceptibles de la fraction hormonale libre pendant le cycle menstruel : le pourcentage de thyroxine libre à la phase pré-ovulatoire est plus élevé qu'au début de la phase menstruelle, la différence étant statistiquement significative ($p < 0.01$) ; elle demeure significative si l'on considère la concentration de T_4 libre, et non plus le seul pourcentage ($p < 0.02$). A la phase lutéinique, les valeurs obtenues sont intermédiaires entre celles de la phase pré-ovulatoire et celles de la phase menstruelle, et il n'existe pas de différence significative avec aucune des deux autres phases.

Cette augmentation de l'hormone libre à la phase pré-ovulatoire est à mettre en parallèle avec une diminution de la capacité maximale de fixation de la Transthyroxine durant cette même période, alors qu'en sens inverse la capacité maximale de TBPA apparaît plus élevée (Tableau III). Ceci s'explique par le fait que la transthyroxine est un déterminant plus important de la fraction libre que la TBPA, du fait de sa constante d'association plus élevée (voir chapitre II). D'autre part, il convient de rappeler l'hypothèse d'une régulation réciproque des niveaux de TBG et TBPA, le taux de la seconde s'ajustant à celui de la transthyroxine (45).

TABLEAU II

MESURES DE LA THYROXINE LIBRE A DIVERS MOMENTS DU
CYCLE MENSTRUEL CHEZ NEUF FEMMES NORMALES

Sujet Numéro	THYROXINE TOTALE MOYENNE N = 4 à 11 μ g/100ml	POURCENTAGE DE THYROXINE LIBRE N = 0.025 + 0.04 %			CONCENTRATION DE THYROXINE LIBRE N = 1.56 + 0.27 ng/100ml		
		DEBUT DES MENSTRUA- TIONS	PHASE PRE- OVULATOIRE	PHASE LUTEINIQUE	DEBUT DES MENSTRUA- TIONS	PHASE PRE- OVULATOIRE	PHASE LUTEINIQUE
104	5.2	0.026	0.035	0.034	1.35	1.82	1.77
105	5.5	0.026	0.025	0.022	1.42	1.46	1.20
106	5.5	0.0265	0.032	0.032	1.45	1.75	1.74
125	5.66	0.0235	0.027	0.026	1.33	1.55	1.47
126	8	0.0257	0.028	0.025	2.06	2.22	1.98
128	5.8	0.026	0.029	0.028	1.50	1.68	1.63
129	6	0.021	0.023	0.023	1.25	1.39	1.39
130	5.25	0.027	0.029	0.028	1.41	1.54	1.47
131	6.66	0.024	0.0265	0.0265	1.61	1.77	1.77
MOYENNE	5.9 + 0.8	0.025 + 0.0018	0.028 ± 0.0034	0.027 + 0.0037	1.49 + 0.22	1.69 + 0.23	1.60 + 0.22

NS

NS

★

TABLEAU III

MESURES DES CAPACITES DE SATURATION DE TBPA ET TBG A
DIVERS MOMENTS DU CYCLE MENSTRUEL CHEZ DIX FEMMES NORMALES

	CAPACITE MAXIMALE DE FIXATION DE LA TRANSTHY- ROXINE			CAPACITE MAXIMALE DE FIXATION DE LA PREALBU - MINE		
	N = 33.4 + 6.4 μ g pour 100 ml			N = 119.6 $\pm$ 18.7 μ g pour 100ml		
Sujet Numéro	Début des Menstrua- tions	Phase pré- ovulatoire	Phase Lutéinique	Début des Menstrua- tions	Phase pré- ovulatoire	Phase Lutéinique
104	40.3	36.1	37.3	87.8	129.5	97.4
105	31.7	32.5	40	124	127.5	117.3
106	39.5	33.9	37.8	88	99.7	112
107	37.4	32.3	33.6	110.3	122	121
125	37	34.5	36.2	108.6	113.2	131.6
126	42.4	31.7	37.7	112.7	138.2	103.1
128	37	33	36.5	101.5	118.8	108.6
129	39.4	31.5	36.3	107	119.8	106.6
130	37.6	32.8	34.9	104.5	121.4	122.4
131	36.5	30.2	26.9	104.5	112.2	133.1
Moyenne	37.9 + 2.7	32.8 + 1.6	35.7 + 3.3	103.9 + 12.2	120.2 + 10	115.3 + 11.3

★

x

+

NS

★ p < 0.01

+ p < 0.02

x p < 0.05

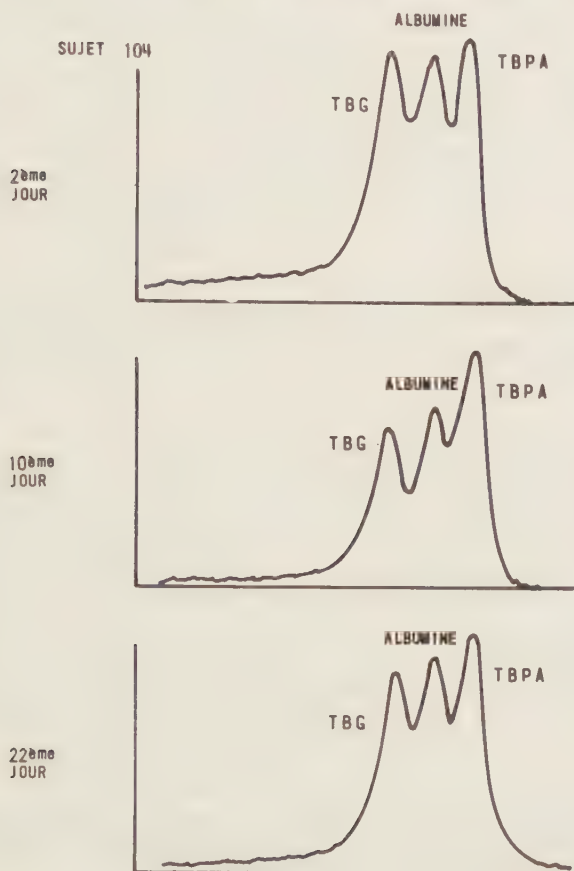
Le même tableau III montre que les variations inverses s'observent à la phase lutéinique puis menstruelle du cycle, la capacité la plus grande de TBG et la plus petite de TBPA étant atteintes au moment de la menstruation (figures 1 et 2). Ces résultats corroborent les observations des auteurs qui ont retrouvé une petite augmentation de l'iode sanguin à la phase prémenstruelle et menstruelle, ainsi que le fait que nos mesures retrouvent une T_4 totale légèrement plus élevée à cette période, quoique de façon non significative. Ici encore la différence entre les capacités des protéines à la phase menstruelle et à la phase préovulatoire ont une signification statistique ($p < 0.01$ pour les variations de TBG, et $p < 0.02$ pour celles de TBPA).

Sur le plan de la critique de nos résultats, il convient d'énoncer quelques points importants que voici : tout d'abord les variations observées ne sont pas de grande amplitude, ce qui ne paraît guère surprenant ; l'ensemble des résultats ne sort pas de la gamme des valeurs normales, à l'exception de la concentration de T_4 libre d'un sujet, due à un taux plus élevé d'hormone totale que nous n'avons pu répéter ; c'est pourquoi nous l'avons exclu dans la prise en compte des résultats de la thyroxine libre, bien qu'il présentât les modifications observées par ailleurs.

D'autre part, les variations observées ne dépassent guère les marges d'erreur des deux méthodes employées, quoi que les changements entre début des menstruations et phase pré-ovulatoire soient statistiquement significatifs. Cependant nous pensons que les modifications relatives observées peuvent être prises en considération du fait que dans tous les cas la mesure des 3 échantillons homologues provenant du même sujet a été effectué conjointement au cours de la même expérience, toute condition expérimentale étant donc rigoureusement semblable.

Il nous faut donc interpréter dans la mesure du possible la signification de ces résultats. Il semble qu'ils mettent en évidence une augmentation relative de la fraction thyroxine libre à la phase préovulatoire du fait d'une baisse modérée de la transthyroxine, elle-même due au fait que la sécrétion oestrogénique est minimale à partir de la chute hormonale de la fin du cycle jusqu'au début de la phase post-menstruelle du cycle suivant. De la même façon, la sécrétion oestrogénique du cycle augmenterait ensuite la concentration sérique de TBG de façon progressive à la seconde phase du cycle, et ainsi abaisserait modérément la concentration de thyroxine libre, qui atteindrait son minimum aux alentours du début des menstruations.

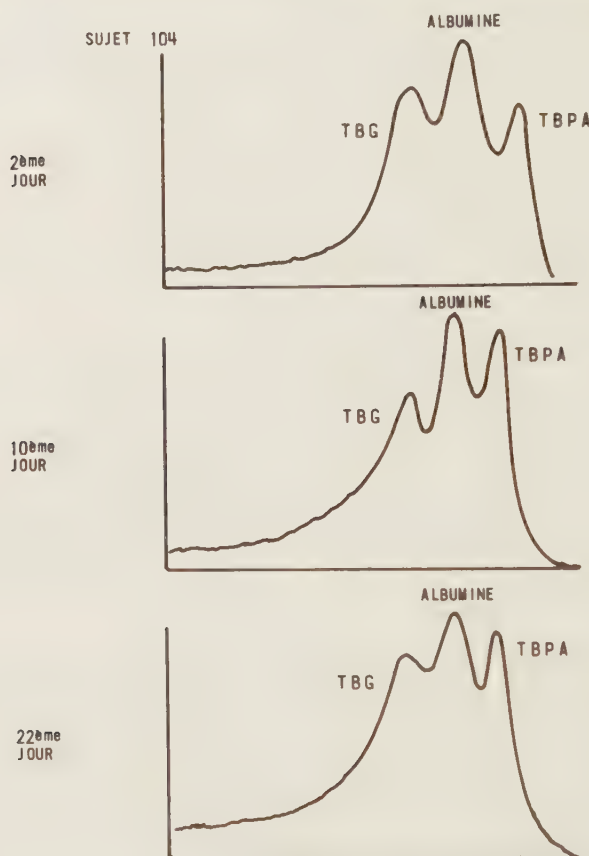
FIG. 1- ÉVOLUTION DE LA CAPACITÉ DE SATURATION DE TBG AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL.



CETTE FIGURE MONTRE LE POURCENTAGE LIÉ À CHACUNE DES PROTÉINES FIXATRICES DU SÉRUM 104 À SATURATION DE TBG (T_4 STABLE SURAJOUTÉE ≈ 150 mg/100 ml) AUX 2^{ÈME}, 10^{ÈME} ET 22^{ÈME} JOUR D'UN CYCLE NORMAL DE 28 JOURS.

OBTENU PAR LECTURE AU DENSITOMÈTRE DE LA RADIOAUTOGRAPHIE DE CONTACT DES BANDES D'ÉLECTROPHORÈSE.

FIG. 2- ÉVOLUTION DE LA CAPACITÉ DE SATURATION DE TBPA AU COURS DU CYCLE MENSTRUEL.



CETTE FIGURE MONTRE LE POURCENTAGE LIÉ A CHACUNE DES PROTÉINES FIXATRICES DU SÉRUM 104 A SATURATION DE TBPA (T_4 STABLE SURAJOUTÉE = 500 mg/100 ml) AUX 2^{ÈME}, 10^{ÈME} ET 22^{ÈME} JOUR D'UN CYCLE NORMAL DE 26 JOURS.

OBTENU PAR LECTURE AU DENSITOMÈTRE DE LA RADIOAUTOGRAFIE DE CONTACT DES BANDES D'ELECTROPHORÈSE.

Il nous faut rapprocher ces résultats des faits observés chez les deux jeunes femmes sous anti-ovulatoires (l'une sous NORE - THINODREL - MESTRANOL, l'autre sous ETHINYL - OESTRADIOL et DIMETHISTERONE) = chez elles le pourcentage de T_4 libre était significativement abaissé, et à l'inverse la capacité de TBG nettement augmentée par rapport aux autres sujets qui présentaient des cycles ovulatoires normaux * (tableau IV). Il semble donc logique de conclure que l'administration d'oestro-progestatifs dans un but anti-ovulatoire suffit pour entraîner de façon perceptible une augmentation de la capacité de TBG et une diminution du pourcentage de T_4 libre telles qu'on les observe dans la grossesse ou par l'administration expérimentale d'oestrogènes à fortes doses.

L'effet des oestrogènes sur le transport de T_3 et T_4 établi, en sens inverse les variations de la thyroxine libre au cours du cycle peuvent-elles avoir une influence sur le déterminisme des phases de ce cycle menstruel ?

De nombreuses études ont été faites sur le rôle éventuel de la T_4 dans le déclenchement de l'ovulation. Une revue récente de STARR (319) rappelle les constatations de nombreux cliniciens, qui ont observé la nécessité d'un état d'euthyroidie pour une fonction ovarienne normale ; et le succès rencontré assez fréquemment par les thérapeutes qui administrent de la thyroxine pour traiter des troubles menstruels ou des stérilités pour lesquels on ne retrouve pas de cause évidente. Toutefois ce traitement n'est efficace que s'il existe un certain degré, même mineur, d'hypothyroidie ; et perd bien sûr toute justification chez une femme euthyroidienne.

La thyroxine libre, forme active de la thyroxine circulante, pourrait ainsi intervenir dans les mécanismes d'induction de l'ovulation à différents niveaux :

* % moyen de T_4 libre = 0.019 ± 0.002 % contre 0.025 ± 0.004 %

T_4 libre moyenne = 1.27 ± 0.14 ng / 100 ml contre 1.56 ± 0.27 ng/100 ml

CTBG moyenne = 40.4 ± 2.25 μ g/100ml contre 33.4μ g ± 6.4 μ g/100 ml

Ces résultats sont à rapprocher de ceux de HOLLANDER et coll. (127 bis)

TABLEAU IV

THYROXINE LIBRE ET CAPACITE DE SATURATION DE TBG et TBPA
CHEZ DEUX FEMMES SOUS OESTRO - PROGESTATIFS

	S U J E T 101			S U J E T 127		
	Début des "Menstruations"	Phase "Pré-ovulatoire"	Phase "Lutéinique"	Début des "Menstruations"	Phase "Pré-ovulatoire"	Phase "Lutéinique"
T ₄ TOTALE ("g/100ml)		5. 9	5. 9	7. 8	8. 2	7. 5
% T ₄ LIBRE	0. 019	0. 019	0. 023	0. 0175	0. 018	0. 018
Conc. T ₄ LIBRE (ng/100ml)	1. 12	1. 12	1. 35	1. 35	1. 40	1. 40
CTBG (μg/100 ml)	40. 1	39. 8	38. 9	41. 0	41. 7	40. 9
CTBPA (μg/100 ml)	103. 1	105. 2	110. 2	95. 8	98. 9	99. 5

- à l'étage hypothalamique, où elle s'accumule au niveau de l'éminence médiane et du noyau paraventriculaire (89) ;

- à l'étage pituitaire, où elle favoriserait l'ovulation en stimulant la sécrétion de LH et en inhibant la formation de F.S.H. (19, 54) ;

- peut - être aussi à l'étage ovarien, sur la réponse de l'ovaire aux injections de gonadotrophines ;

le mieux établi et le plus important de ces effets étant la stimulation de la sécrétion de LH avec inhibition simultanée de la formation de F.S.H.

A la lumière de nos résultats, il paraît logique de penser qu'une augmentation de la concentration de thyroxine libre à la phase préovulatoire constitue un des facteurs orientant l'activité des cellules anté-hypophysaires de la sécrétion de FSH vers celle de LH, et peut ainsi représenter un phénomène préparateur, sinon inducteur de l'ovulation.

Il conviendrait d'expliquer un fait ressortant de notre expérimentation : pourquoi l'augmentation de capacité de TBG induite par les oestrogènes ne devient-elle perceptible qu'après l'ovulation, alors que la sécrétion oestrogénique commence peu après le début du cycle ?

Nous savons expérimentalement que de fortes doses d'oestrogènes demandent deux à huit jours pour modifier de façon perceptible la CTBG. On pourrait concevoir l'existence d'un seuil hormonal pour l'action de stimulation hépatique de la synthèse des glycoprotéines spécifiques, d'autant que les variations physiologiques de la sécrétion oestrogénique sont inférieures aux concentrations expérimentales qui ont été utilisées.

En conclusion, nos résultats montrent que les variations de sécrétion oestrogénique du cycle semblent induire des modifications dans le transport sérique des hormones thyroïdiennes. Cette constatation est un complément logique des travaux effectués jusqu'ici sur les interrelations fonctionnelles oestrogènes - thyroïde. La littérature sur ce sujet est remplie de résultats contradictoires : les oestrogènes ayant été retrouvés à l'origine aussi bien d'une stimulation que d'une inhibition, ou encore comme étant sans effets sur l'activité thyroïdienne.

Cependant un travail récent de D'ANGELO et FISHER montre que ces résultats plurivoques reflètent un effet différent des oestrogènes selon le taux de leur administration ; donnés à des taux physiologiques, ils augmentent la sécrétion de TSH par l'antéhypophyse (17, 41) ; cet effet est supprimé par la déficience ou par l'excès d'oestrogènes.

Au total ces interrelations fonctionnelles oestrogènes-thyroïde paraissent complexes, et leurs effets semblent directement liés aux concentrations utilisées expérimentalement ; d'où l'importance de l'évaluation de ces interactions à des niveaux hormonaux qui sont ceux que l'on rencontre chez le sujet normal pour essayer de comprendre la physiologie des relations fonctionnelles entre l'hypothalamus et l'antéhypophyse. Cependant les modifications induites par les oestrogènes sur le transport des hormones thyroïdiennes au cours du cycle apparaissent constituer un chaînon différent pouvant éventuellement modifier le turn-over de T_3 et T_4 par l'intermédiaire du foie, et non plus directement par celui du « couple » hypothalamo-hypophysaire.

RESUME ET CONCLUSIONS

Le transport des hormones thyroïdiennes est assuré dans le sang par un ensemble de protéines spécifiques : la TBG ou Transthyroxine, la TPBA ou Pré-albumine, et la Sérum-albumine. La quasi-totalité des hormones thyroïdiennes est liée de façon réversible à ces protéines, si bien qu'une faible proportion seulement de triiodothyronine et thyroxine demeure à l'état libre. Cette fraction libre semble constituer la fraction hormonale active à la périphérie, ainsi que l'élément qui entre en jeu dans la régulation de la sécrétion thyroïdienne par le mécanisme de rétro-action hypothalamo-hypophysaire. C'est assez souligner l'importance de l'étude des facteurs extra-thyroïdiens qui sont susceptibles de jouer dans la fonction thyroïdienne, et en particulier des diverses composantes du transport sanguin des hormones de la thyroïde.

La première partie de notre travail est d'ordre bibliographique. Après un résumé sur les conceptions actuelles de la physiologie de la glande thyroïde, nous rappelons les données de la littérature déjà disponibles sur les éléments du transport sanguin, c'est à dire les protéines fixatrices, la fraction thyroxine libre, et leurs méthodes d'exploration. Nous insistons ensuite sur les variations du transport dans diverses circonstances physiologiques et pathologiques.

La partie expérimentale de notre travail porte sur la mesure de la thyroxine libre et de la capacité de fixation des protéines vectrices, la Transthyroxine et la Pré-albumine.

La thyroxine libre est mesurée par dialyse du sérum marqué par la T_4 - ^{125}I , suivie d'une précipitation par le magnésium de la fraction libre, selon une méthode dérivée de celle de STERLING et BRENNER. Nous avons précisé l'importance de certains facteurs techniques susceptibles de modifier les résultats. La T_4 - ^{125}I contient inévitablement une certaine proportion de T_3 - ^{125}I . La précipitation par le magnésium de ces impuretés de T_3 - ^{125}I est responsable de valeurs faussement élevées de thyroxine libre. L'erreur reste peu importante tant que la T_3 - ^{125}I ne représente pas plus de 4 % de la radioactivité du traceur. Lorsque ce pourcentage n'est pas supérieur à 3 %, on obtient un taux normal de thyroxine libre de 1.56 ± 0.27 nanogrammes/100 ml, soit 0.025 ± 0.004 % de la thyroxine totale. Ces résultats se rapprochent de ceux qui ont été obtenus après purification préalable du traceur radio-actif. Ils confirment l'hypothèse que les valeurs plus élevées notées dans d'autres laboratoires proviennent vraisemblablement de la contamination du traceur par des impuretés.

Les capacités de fixation de la Transthyroxine et de la Préalbumine sont mesurées par une méthode originale d'électrophorèse sur polyacétate de cellulose du sérum marqué par T_4 - ^{125}I suivie d'autoradiographie. Avec cette méthode la capacité de saturation de la Transthyroxine est de 30.1 ± 4.8 microgrammes de T_4 /100 ml lorsque le sérum est enrichi par 100 μg de T_4 /100 ml ; celle de la Préalbumine est de 119.6 ± 18.7 microgrammes de T_4 /100ml. La valeur de cette méthode paraît équivalente à celle des techniques d'électrophorèse sur papier déjà publiées. Sa rapidité et sa plus grande facilité technique permettent d'en étendre les applications pratiques. Cependant elle souffre des mêmes inconvénients, inhérents à toutes les méthodes électrophorétiques à courant direct. La valeur absolue des chiffres dépend en partie des facteurs dus à la technique d'électrophorèse elle-même ; néanmoins ils gardent toute leur valeur pour comparer les capacités de fixation des protéines porteuses de sérums différents.

En utilisant ces méthodes, nous avons mesuré la thyroxine totale, le pourcentage et la concentration de thyroxine libre, et les capacités de saturation de la Transthyroxine et de la Préalbumine à divers moments du cycle menstruel chez dix femmes normales ; les mêmes mesures ont été faites chez deux femmes sous traitement oestro-progestatif.

Au cours du cycle menstruel, nous retrouvons une variation continue et inverse de la thyroxine libre et de la capacité de saturation de la Transthyroxine. Celle-ci est un déterminant plus important de la fraction libre que la TBPA. De plus, les capacités de saturation des deux protéines paraissent varier en sens inverse. Au début des menstruations, la capacité de la transthyroxine est maximale, et la thyroxine libre minimale. Au contraire, dans les jours qui précèdent l'ovulation, la thyroxine libre est augmentée, et la capacité de la transthyroxine plus basse. Il existe une différence significative entre les valeurs obtenues à ces deux périodes. En phase lutéinique avancée, on obtient des chiffres intermédiaires. Ces variations peuvent être imputées à l'effet des changements de sécrétion oestrogénique au cours du cycle, et sont donc de même sens que celles que l'on a déjà décrites au cours de la grossesse. Cependant elles sont de faible amplitude, et l'ensemble des résultats ne sort pas de la gamme des valeurs normales.

Chez les deux femmes sous oestro-progestatifs, le pourcentage de thyroxine libre est significativement abaissé, et la capacité de la TBG nettement augmentée par rapport aux femmes présentant des cycles normaux. Les anti-ovulatoires suffisent donc à reproduire les effets de l'administration d'oestrogènes à fortes doses sur les composantes du transport sanguin des hormones thyroïdiennes.

Une hypothèse est proposée concernant l'effet éventuel de ces variations sur le déterminisme des différentes phases du cycle menstruel.

Vu, le 13 Novembre 1969

Le Président de Thèse

G. MEYNIEL

Vu, le 14 Novembre 1969

Le Doyen

G. MEYNIEL

Vu et Permis d'Imprimer

N° M 44/69

le 5 Décembre 1969

Le Doyen

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALBERT A, et KEATING FR. Jr - 1952
The role of the gastrointestinal tract, including the liver, in the metabolism of radio-thyroxine.
Endocrinology : 51 : 427.
- 2 - ALBRIGHT E. C., LARSON F. C. et DEISS W. P. - 1955
Thyroxine-binding capacity of serum alpha globulin in hypothyroid, eutyroid and euthyroid subjects.
J. Clin. Invest. 34 : 1698.
- 3 - ALBRIGHT EC., TOMITA K. et LARSON FC - 1959
In vitro metabolism of triiodothyronine.
Endocrinology 64 : 208.
- 4 - ALEXANDER N. M. - 1959
Iodide peroxidase in rat thyroid and salivary glands, and its inhibition by antithyroid compounds.
J. Biol. Chem. 234 : 1530.
- 5 - ALEXANDER N. M. et CORCORAN B. T. - 1962
The reversible dissociation of thyroid iodide peroxidase into apoenzyme and prosthetic group.
J. Biol. Chem. 237 : 243.
- 6 - ALEXANDER R. W. et MARMORSTON J. - 1961
Effect of 2 synthetic estrogens on the level of serum protein-bound iodine in men and women with atherosclerotic heart disease.
J. Clin. Endoc. Metab. 21 : 243.
- 7 - ALLISON A. C.- 1959
Identification of human serum proteins binding iron, copper and thyroid hormones by starch gel electrophoresis.
Experientia 15 : 281.
- 8 - ALPERS J. B. et RALL J. E. - 1955
The metabolism of iodine in Cerebro Spinal Fluid.
J. Clin. Endoc. Metab. 15 : 1482
- 9 - ALVSAKER J. O., HAUGLI F. B. et LALAND S. G. - 1967
The presence of vitamin A in human tryptophan-rich prealbumin.
Biochem. J. 102 : 362.

- 10 - ALY F.W. et GILLICK K.H. - 1960
Eine Methode zum Nachweis der Hormonbindung von Serum-
fraktionen.
Naturwissensch. 47 : 280
- 11 - ANDERSON B.G. - 1968
Free thyroxine in serum in relation to thyroid function.
JAMA, 203 : 577
- 12 - ANDREOLI M., ROBBINS J. et CASSANO C. - 1964
dans " La Thyroïde " p. 317, l'Expansion éd., Paris.
- 13 - ANDREOLI M. et ROBBINS J. - 1964
Congrès de l'Amer. Thyroid Assoc. Abstr. 24. Chicago,
1964.
- 14 - ANDREOLI M. et ANDREANI D. - 1959
Minerva Nucl. 3 : 161
- 15 - ANDREOLI M. et ROBBINS J. - 1962
Serum proteins and thyroxine-protein interactions in early
human fetuses.
J. Clin. Invest. 41 : 1070.
- 16 - ANDROS G., et WOLLMAN S.H. - 1964
Autoradiographic localization of Iodide 125 in the thyroid
epithelial cell.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 115 : 775
- 17 - D'ANGELO S.A. et FISHER J.S. - 1969
Influence of estrogen on the pituitary-thyroid system of the
female rat : mechanisms and loci of action.
Endocrinology 84 : 117
- 18 - ARANGO G., MAYBERRY W.E., HOCKERT T.J. et ELVEBACK
L.R. - 1968
Total and free human serum thyroxine in normal and abnor-
mal thyroid states.
Mayo Clinic Proc. 43 : 503.
- 19 - ATALLA F., et REINEKE E.P. - 1951
Influence of thyroid status on reproductive organs of young
female mice.
Fed. Proc. 10 : 6;
- 20 - AZERAD - 1960
Métabolisme de l'Iode.
Cahiers du Coll. Méd. Hôp. Paris n° 2, p. 65-68
- 21 - BALASUBRAMANIAM K. et DEISS W.P. - 1965
Characteristics of thyroid lysosomal Cathepsin.
Biochim. Biophys. Acta 110 : 564
- 22 - BECKERS C., MALVAUX P. et DE VISSCHER M. - 1966
J. Clin. Endoc. Metab. 25 : 817
- 23 - BEIERWALTES W.H., CARR E.A. et HUNTER R.L. - 1961
Hereditary increase in the thyroxine-binding sites in the se-
rum alpha globulin.
Trans. Ass. Am. Phys. 74 - 170

- 24 - BEIERWALTES W.H. et ROBBINS J. - 1959
Familial increase in the thyroxine-binding sites in serum alpha globulin.
J. Clin. Invest. 38 : 1683.
- 25 - BEISEL W.R., ZAINAL H., HAME S., DI RAIMONDO V.C.,
et FORSHAM P.H. - 1962.
Low thyroidal iodine uptake with euthyroidism associated with deficient thyroxine-binding globulin but normal cortisol binding.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 1165.
- 26 - BELLABARBA D., INADA M., VARSANO - AHARON N.,
et STERLING K. - 1968
Thyroxine transport and turn-over in major non thyroidal illness.
J. Clin. Endoc. Metab. 28 : 1023
- 27 - BELLABARBA D., NEWMAN E.S., BRENNER M.A., et
STERLING K. - 1968
Détermination de la Triiodothyronine dans le sang chez l'homme.
" Club de Recherches Cliniques du Québec "
Congrès Annuel, l'Ile-aux-Coudres, P.Q. 1968.
- 28 - BELLABARBA D., NEWMAN E.S., BRENNER M.A. et
STERLING K. - 1968
Measurement of Triiodothyronine in Human Serum.
Congrès de l'American Thyroid Association, Washington, D.C.
1968
- 29 - BERAUD T., et VANNOTTI A. - 1957.
Liaison de la thyroxine aux protéines plasmatiques dans l'hé-
patite épidémique.
Schweiz. Med. Wochenschr. 87 : 996
- 30 - BERAUD T. et VANNOTTI A. - 1960
Comportement métabolique du rat hépatectomisé.
Acta Endoc., 35 : 324.
- 31 - BERNSTEIN G. et OPPENHEIMER J.H. - 1966
Factors influencing the concentration of free and total thyro-
xine in patients with non thyroidal disease.
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 195.
- 32 - BIRD R., et FARRAN H.E.A. - 1960
A sensitive method for the detection of iodinated compounds
in human plasma, and its applications in the study of thyroto-
xicosis.
J. Clin. Endoc. Metab. 20 : 81
- 33 - BLANQUET P., MEYNIEL G., SAVOIE J.C. - 1960
Résines échangeuses d'ions et métabolisme thyroïdien. Dé-
terminations quantitatives portant sur le plasma.
C.R. Acad. Sci. 250 : 217.
- 34 - BLANQUET P., MEYNIEL G., BERNARD-GRIFFITHS C.,
BELIN J. et RIOLLET M. - 1961.
Résines échangeuses d'ions dans le diagnostic des affections
thyroïdiennes.
J. de Méd. de Bordeaux 8 : 983.

- 35 - BLANQUET P., VRIGNAUD J.C., CROIZET M., BRANDRICK A. et MEYNIEL G. - 1963.
Quelques données nouvelles concernant l'iode organique circulant.
Compt. Rend. Soc. Biol. 4 : 804
- 36 - BLANQUET P., MEYNIEL G., BERGER J.A. et CROIZET M. - 1964.
Mise en évidence dans le plasma sanguin de nouvelles substances organiques iodées.
Compt. Rend. Acad. Sci. 259 : 476
- 37 - BLANQUET P., MEYNIEL G., BERGER J.A. et CROIZET M. - 1964.
Nature et action physiologique d'une nouvelle substance organique iodée : le tyrosyl-tyrosine tétra-iodée.
Compt. Rend. Acad. Sci. 259 : 671.
- 37 bis - BLANQUET P., MEYNIEL G., CROIZET M. et MOURA A.M. - 1968 -
Hypothylassus et thyroïde.
Gauthier - Villars éd. Paris.
- 38 - BLUMBERG B.S., ROBBINS J. - 1960
Thyroxine-Serum Protein Complexes : Single Dimension gel and paper electrophoresis studies.
Endoc. 67 : 368.
- 39 - BLUMBERG B.S. et WARREN L. - 1961.
The effect of sialidase on transferrin and other serum proteins.
Biochim. Biophys. Acta, 50 : 90.
- 40 - BLUMBERG B.S., FARER L., RALL, J.E. et ROBBINS J. - 1961 -
Thyroxine-serum protein complexes : two-dimension gel and paper electrophoresis studies.
Endocrinology 68 : 25
- 41 - BOCCABELLA A.V. et ALGER E.A. - 1967
Quantitative variations in serum thyrotropin level during the estrous cycle of the rat.
Endocrinology 81 : 121
- 42 - BONDY P. et HAGEWOOD M.A. - 1952.
Effect of stress and cortisone on plasma protein-bound iodine and thyroxine metabolism in rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81 : 328
- 43 - BRAASH J.W., ALBERT A., KEATING F.R. et BLACK B.M. 1955 -
A note on the iodinated constituents of normal thyroids and of exophthalmic goiters.
J. Clin. Endoc. Metab. 15 : 732
- 44 - BRAVERMAN L.E., DAWBER N.A. et INGBAR S.H. - 1966
Observations concerning the binding of thyroid hormones in sera of normal subjects of varying ages.
J. Clin. Invest. 45 : 1273
- 45 - BRAVERMAN L.E., FOSTER A.E. et INGBAR S.H. - 1967
Sex-related differences in the binding in serum of thyroid hormones.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 227

- 46 - BRAVERMAN L. E., FOSTER A. E. et INGBAR S. H. - 1968
Thyroid hormone transport in the serum of patients with thyrotoxic Graves disease before and after treatment.
J. Clin. Invest. 47 : 1349
- 47 - CARTER A. C., FELDMAN E. B., et SCHWARTZ H. L. - 1960
Levels of serum protein-bound iodine in patients with metastatic carcinoma of the breast.
J. Clin. Endoc. Metab. 20 : 477
- 48 - CAVALIERI R. R. et SEARLE G. L. - 1966
Kinetics of distribution between plasma and liver of ^{131}I - labelled l - thyroxine in man ; observation of subjects with normal and decreased serum TBG.
J. Clin. Invest 45 : 939
- 49 - CAVALIERI R. R. - 1961
Hyperthyroidism and decreased thyroxine-binding by serum proteins.
J. Clin. Endoc. Metab. 21 : 1455
- 50 - CHIN W., et SCHUSSLER G. C. - 1968
Decreased serum free thyroxine concentration in patients treated with diphénylhydantoïn.
J. Clin. Endoc. Metab. 28 : 181
- 51 - CHRISTENSEN L. K. - 1960
Free non protein-bound serum thyroxine.
Acta Med. Scand. 166 : 133
- 52 - CHRISTENSEN L. K. et LITONJUA A. D. - 1961
Is thyroxine-binding by Pre-albumin of physiologic importance?
J. Clin. Endoc. 21 : 104
- 53 - CHRISTENSEN L. K. - 1959
A method for the determination of free, non protein-bound thyroxine in serum.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 11 : 326
- 54 - CHU J. P. et YOU S. S. - 1945
Role of thyroid gland and estrogen in regulation of gonadotrophic activity of anterior pituitary
J. Endoc. 4 : 115
- 55 - COPP D. H., CAMERON E. C., CHENEY B., DAVIDSON A. G. F. et HENZE G. - 1962.
Evidence for calcitonin - a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium.
Endocrinology 70 : 638
- 56 - CRUCHAUD S., BERAUD T. H., CRUCHAUD J. et VANNOTTI A. 1958
Etude du métabolisme de la thyroxine dans un cas de syndrome néphrotique.
Schweiz. Med. Wochenschr. 88 : 610
- 57 - DAILEY M. E. et SKAHEN J. R. - 1956
A statistical appraisal of the serum protein-bound iodine as a test of thyroid function.
New Eng. J. Med. 254 : 909

- 58 - DANIEL P.M., PLASKETT L.G. et PRATT O.E. - 1966
Radioactive Iodoprotein in Thyroid Lymph and Blood.
Biochem. J. 100 : 622.
- 59 - DANOWSKI T.S., HEDENBURG S.H. et GREENMANN J.H. - 1949
The constancy of the serum precipitable or protein-bound iodine in healthy adults.
J. Clin. Endoc. Metab. 10 : 735.
- 60 - DANOWSKI T.S., GOW R.C., MATEER F.M., EVERHART W.C., JOHNSTON S.Y. et GREENMANN J.H. - 1950
Increases in serum thyroxine during uncomplicated pregnancy.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74 : 323
- 61 - DANOWSKI T.S., BASTIANI R.M., Mc WILLIAMS F.D., MATEER F.M. et GREENMAN L. - 1956
Muscular dystrophy.IV - Endocrine studies.
Am. J. Dis. Childh. 91 : 356
- 62 - DANOWSKI T.S., JOHNSTON S.Y., PRICE W.C., Mc KELVY M., STEVENSON S.S. et Mc CLUSKEY ER. - 1951
Protein-bound iodine in infants from birth to one year of age
Pediatrics 7 : 240
- 63 - DAVIS P.J. - 1966
Factors affecting the determination of the serum protein-bound iodine.
Am. J. Med. 40 : 918
- 64 - DEISS W.P., ALBRIGHT E.C. et LARSON F.C. - 1952
A study of the nature of the circulating thyroid hormone in euthyroid and hyperthyroid subjects by use of paper electrophoresis.
J. Clin. Invest. 31 : 1000.
- 65 - DEMPSEY E.W. - 1944
Fluorescent and Histochemical Reactions in the rat thyroid gland at different states of physiological activity.
Endocrinology 34 : 27
- 66 - DOWLING J.T., INGBAR S.H., et FREINKEL N. - 1960
Iodine metabolism in hydatidiform mole and choriocarcinoma.
J. Clin. Endoc. Metab. 20 : 1
- 67 - DOWLING J.T., FREINKEL N. et INGBAR S.H. - 1956
Thyroxine-binding by sera of pregnant women, newborn infants, and women with spontaneous abortion.
J. Clin. Invest. 35 : 1263.
- 68 - DOWLING J.T., FREINKEL N. et INGBAR S.H. - 1956
Effect of diethylstilboestrol on the binding of thyroxine in serum.
J. Clin. Endoc. Metab. 16 : 1491
- 69 - ELZINGA K.E., CARR E.A., Jr et BEIERWALTES W.H. - 1961
Adaptation of the standard Durrum-type cell for reverse-flow paper electrophoresis.
Am. J. Clin. Path. 36 : 125

- 70 - ENGBRING N.H. et ENGSTRÖM W.W. - 1959
Effects of estrogen and testosterone on circulating thyroid hormone.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 783
- 71 - ENGSTRÖM W.W. et MARKARDT B. - 1955
The effects of serious illness and surgical stress on the circulating thyroid hormone.
J. Clin. Endoc. Metab. 15 : 953.
- 72 - ETLING N. et BARKER S.B. - 1959
Deiodination of thyroxine by heat-killed rat kidney cortex.
Endocrinology, 65 : 95.
- 73 - ETLING N. et BARKER S.B. - 1959
Metabolism of thyroxine during prolonged kidney cortex incubation.
Endocrinology, 64 : 753
- 74 - FAHEY, J.L., MAC COY P.F. et GOULIAN M. - 1958
Chromatography of serum proteins in normal and pathologic sera : the distribution of protein-bound carbohydrate and cholesterol, siderophilin, thyroxine-binding protein, B-12 binding protein, alkaline and acid phosphatases, radio-iodinated albumin, and myeloma proteins.
J. Clin. Invest. 37 : 272
- 75 - FARER L.S., ROBBINS J. et BLUMBERG B.S. - 1962.
Electrophoresis of thyroxine in proteins-free solutions and in sera deficient in binding proteins.
Endocrinology 70 : 679
- 76 - FARRAN H.E.A., LEA A.J., GOOLDEN, AWG et ABBOTT J.D. - 1959
Iodinated tyrosines in the plasma of patients with thyrotoxicosis.
Lancet I : 793
- 77 - FAWCETT D.M. et KIRKWOOD S. - 1954
Tyrosine-iodinase
J. Biol. Chem. 209 : 249
- 78 - FEDERMAN D.D., ROBBINS J. et RALL J.E. - 1958
Effect of methyltestosterone on thyroid function, thyroxine metabolism, and thyroxine-binding protein.
J. Clin. Invest. 37 : 1024
- 79 - FELDMAN J.D. - 1957
Effect of estrogen on the peripheral utilization of thyroid hormones.
Am. J. Physiol. 188 : 30
- 80 - FELDMAN E.B., CARTER A.C. et ROBBINS J. - 1959
Effect of 17 alphamethyl 19 nortestosterone administration on thyroid function.
Clin. Res. 7 : 240
- 81 - FERRARIS G.M. et SCORTA A. - 1955
Comportamento di alcuni tests di funzione tiroidea in gravidanza e in puerperio.
Minerva Ginec. 7 : 308.

- 82 - FIASCHI E. et ANDREOLI M. - 1959
Folia Endoc. (Rome) 12 : 200
- 83 - FISHER D.A. et ODDIE T. - 1964
Neonatal thyroidal hyperactivity, response to cooling,
Am. J. Dis. Childh. 107 : 574
- 84 - FITTING W. - 1960
Serum Concentration and thyroidal uptake rate of stable
iodine in various states of thyroid function.
J. Clin. Endoc. Metab. 20 : 569
- 85 - FLOCK E.V., BOLLMANN J.L. et GRINDLAY J.H. - 1957
Biliary excretion and metabolism of radio-active L -
triiodothyronine.
Am. J. Physiol. 189 : 420
- 86 - FLOCK E.V., BOLLMANN J.L., GRINDLAY J.H. et MAC
KENZIE B.F. - 1957
Metabolites of radioactive L-thyroxine and L-triiodothyronine.
Endocrinology, 61 : 461.
- 87 - FLOCK E.V., BOLLMANN J.L. et GRINDLAY J.H. - 1960
Conjugates of triiodothyronine and its metabolites.
Endocrinology, 67 : 419
- 88 - FLORSHEIM W.H., DOWLING J.T., MEISTER L., et BODFISH
R.E. - 1962
Familial elevation of serum thyroxine binding capacity.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 735
- 89 - FORD D.H. et GROSS J. - 1958
The metabolism of ^{131}I - labelled thyroid hormones in the
hypophysis and brain of the rabbit.
Endocrinology 62 : 416
- 90 - FORE W., KOHLER P., et WYNN J. - 1966
Rapid redistribution of serum thyroxine during ether anesthesia
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 821
- 91 - FOSTER G.V., BAGDAINTZ A., KUMAR M.A., SLACK E.,
SOLIMAN H.A., et Mc INTYRE I. - 1964
Thyroid origin of calcitonin
Nature 202 : 1303
- 92 - FREEDBERG I.M., HAMOLSKY M.W., et FREEDBERG A.S. -1957
The thyroid gland in pregnancy.
New Eng. J. Med. 256 : 505
- 93 - FREINKEL N., INGBAR S.H., DOWLING J.T. - 1957
The influence of extracellular thyroxine-binding protein upon
the accumulation of thyroxine by tissue slices.
J. Clin. Invest. 36 : 25
- 94 - FREINKEL N., DOWLING J.T., INGBAR S.H. - 1955
The interaction of thyroxine with plasma proteins : localization
of thyroxine-binding protein in Cohn fractions of plasma.
J. Clin. Invest. 34 : 1698.
- 95 - FRIIS T. - 1960
In vitro uptake of ^{131}I - labelled l-triiodothyronine by human
erythrocytes.
Acta Endoc. 33 : 117

- 96 - FRIIS T. - 1960
On the mechanism of the in vitro uptake of ^{131}I - labelled L - triiodothyronine by human erythrocytes.
Acta Endoc 33 : 134
- 97 - FRISS T. et SECHER E. - 1955
Protein-bound iodine of serum in induced abortion and at delivery.
Acta Endoc. 18 : 428
- 98 - GAFFNEY G.W., GREGERMAN R.I., YENGST W.J. et SHOCK N.W. - 1960
Serum protein-bound iodine concentration in blood of euthyroid men aged 18 to 94 years.
J. Geront. 15 : 234
- 99 - GALTON V.A. et INGBAR S.H. - 1966
Effect of a malignant tumor on thyroxine metabolism and thyroid function in the rat.
Endocrinology, 79 : 964
- 100 - GIORGIO, NA Jr et TABACHNIK M. - 1968
Thyroxine-protein interactions. V. Isolation and characterization of a thyroxine-binding globulin from human plasma
J. Biol. Chem. 243 : 2247
- 101 - GORDON A.H., GROSS J., O'CONNOR D., PITT-RIVERS R. - 1952
Nature of the circulating thyroid hormone-plasma protein complex.
Nature 169 : 19
- 102 - GORMAN C.A., FLOCK E.V., OWEN C.A. Jr. et PARIS J. - 1966
Factors affecting exchange of thyroid hormones between liver and blood.
Endocrinology 79 : 391
- 103 - GOTTSCHALK C.W. et RIGGS D.S. - 1952
Protein - bound iodine in the serum of soldiers and of eskimos in the arctic.
J. Clin. Endoc. Metab. 12 : 235 .
- 104 - GREGERMAN R.I. et SALOMON N. - 1967
Acceleration of thyroxine and triiodothyronine turnover during bacterial pulmonary infections and fever : implications for the functional state of the thyroid during stress and senescence.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 93
- 105 - DE GREGORIO P., LOBO L.C., MICHEL R. et ROCHE J. - 1960
Nature des métabolites des hormones thyroïdiennes présents dans la bile et le plasma du rat après administration d'iodures radio-actifs.
Bull. Soc. Chim. Biol. 42 : 1213.

- 106 - DE GROOT L. J., HALL R., Mc. DERMOTT W. V. et DAVIS A. M. - 1962
Hashimoto's thyroïditis. A genetically conditioned disease.
New. Eng. J. Med. 267 : 267
- 107 - DE GROOT L. J. et DAVIS A. M. - 1964
Studies on the biosynthesis of Iodotyrosines.
J. Biol. Chem. 236 : 2009
- 108 - DE GROOT L. J., THOMPSON J. E. et DUNN D. - 1965
Studies on an iodinating enzyme from calf thyroid.
Endocrinology 76 : 632
- 109 - GUERIN M. T. et TUBIANA M. - 1964.
Résultats du dosage des protéines vectrices de l'hormone thyroïdienne (TBG et TBPA) chez les hyperthyroïdiens et les cancéreux.
Ann. Endoc. Paris 25 : 475
- 110 - GROSS J., LEBLOND C. P., FRANKLIN A. E., QUASTEL J. M. - 1950
Presence of iodinated amino acids in unhydrolyzed thyroid and plasma.
Science 111 : 605
- 111 - HALMI N. S. - 1961
Thyroidal Iodide Transport.
Vitamins and Hormones : Advances in Research and Applications 19 : 133
- 112 - HAMOLSKY M. W., GOLODETZ A., et FREEDBERG A. S. - 1959
The plasma protein-thyroid hormone complex in man.
III - Further studies on the use of the in vitro red blood cell uptake of ^{131}I -l-triiodothyronine as a diagnostic test of thyroid function
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 103
- 113 - HAMOLSKY M. W., STEIN M. et FREEDBERG A. S. - 1957
The thyroid hormone - plasma protein complex in man. II.
A new in vitro method for study of uptake of labelled hormonal components by human erythrocytes.
J. Clin. Endoc. Metab. 17 : 33
- 114 - HAMOLSKY M. W., FISHER D. B. et FREEDBERG A. S. - 1960
Further studies on the plasma protein-thyroid hormone complex.
Endocrinology, 66 : 780
- 115 - HARINGTON C. R. et BARGER G. - 1927
XXIII. Chemistry of Thyroxine.
III. Constitution and synthesis of thyroxine.
Biochem. J. 21 : 169.

- 116 - HARRISON T.S. - 1964
Adrenal medullary and thyroid relationships,
Physiol. Rev. 44 : 161
- 117 - HASEN J., BERNSTEIN G., VOLPERT E.M., et OPPENHEIMER J.H. - 1968
Analysis of rapid interchange of thyroxine between plasma and liver and kidney in intact rat.
Endocrinology 82 : 37
- 118 - HEINEMANN M., JOHNSON C.E. et MAN E.B. - 1948
Serum precipitable iodine concentration during pregnancy.
J. Clin. Invest. 27 : 91
- 119 - HELLMAN E.S., TSCHUDY D.P., ROBBINS J. et RALL J.E. - 1963
Elevation of the serum protein-bound iodine in acute intermittent porphyria.
J. Clin. Endoc. Metab. 23 : 1185
- 120 - HERVEG J.P., BECKERS C. et DE VISSCHER M. - 1966
Lysosomal hydrolases in calf thyroid.
Biochem. J. 100 : 540.
- 121 - HILLMANN G.Z. : 1956
Naturforsch. 11 b : 474
- 122 - HIRSCH P.F., GAUTHIER G.F. et MUNSON P.L. - 1963
Thyroid hypocalcemic principle and recurrent laryngeal nerve injury as factors affecting the response to parathyroidectomy in rats.
Endocrinology 73 : 244
- 123 - HIRSCHFELD et SODERBERG U. - 1960
Autoradiographs of human sera tagged with radioactive thyroxine and investigated in immunoelectrophoresis.
Experientia 16 : 198
- 124 - HJORT T. - 1963
"Thyroglobulin" in the serum.
Acta Med. Scand. 174 : 137
- 125 - HOCH H., SINNETT S.L., MILLER P.O. et MAHADY I.B. - 1965
Dialyzable thyroid hormone-binding material in human serum.
Biochemistry 4 : 931
- 126 - HOFMAN-GREDNER D. - 1957
Das Thyroxinbindungsvermögen des Serums als Diagnosticum bei Funktionsstörungen der subtotal-resezierten Schilddrüse.
Klin. Wochenschr. 35 : 121
- 127 - HOLLANDER C.S., SCOTT R.L., PELROTH M., TSCHUDY D.P., STERLING K. - 1965
Elevated thyroxine-binding globulin in acute intermittent porphyria.
Clin. Res. 13 : 548
- 127 bis - HOLLANDER C.S., GARCIA A.M., STURGIS S.H., et SELLENKOW H.A. - 1963.
Effect of an ovulatory suppressant on the serum protein-bound iodine and the red-cell uptake of radioactive triiodothyronine.
New Eng. J. Med. 269 : 501.

- 128 - HOLLANDER C.S., SCOTT R.L., BURGESS J.A., RABINOWITZ D., MERIMEE T.J. et OPPENHEIMER J.H. - 1967
Free fatty acids : a possible regulator of free thyroid hormone level in man.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 1219
- 129 - HOLLANDER C.S., BERNSTEIN G. et OPPENHEIMER J.H. - 1968
Abnormalities of thyroxine-binding in analbuminemia.
J. Clin. Endoc. Metab. 28 : 1065
- 130 - HOLLANDER C.S., ODAK V.V., PROUT T.E. et ASPER S.P. 1962
An evaluation of the role of pre-albumin in the binding of thyroxine.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 617
- 131 - HORST W. et ROSSLER H. - 1953
Der transport des Hormonjods in Menschlichen Serum untersucht mit Papierelektrophorese und Radiojod (Zugleich ein Beitrag zur Frage der Existenz von sog. Zwischen fraktionen)
Klinische Wochenschr. 31 : 13
- 132 - HOSOYA T., KINDO H., et UI N - 1962
Peroxidase activity in thyroid gland, and partial purification of the enzyme.
J. Biochem. (Tokyo) 52 : 180
- 133 - HOSOYA T., et MORRISON M. - 1965
Isolation of thyroid microsomal peroxidase.
Fed. Proc. 24 : 605
- 134 - HOSOYA T., et MORRISON M. - 1967
The isolation and purification of thyroid peroxidase.
J. Biol. Chem. 242 : 2828
- 135 - IMARISIO J.J. et GRECO J. - 1964
Thyroid Hormone Binding by Serum Proteins.
Metabolism 13 : 897
- 136 - INADA M. et STERLING K. - 1966
Programm of American Thyroid Association p. 24
- 137 - INADA M. et STERLING K. - 1967
Thyroxine transport in thyrotoxicosis and hypothyroidism
J. Clin. Invest. 46 : 1442
- 138 - INADA M. et STERLING K. - 1967
Thyroxine turnover and transport in active acromegaly.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 1019
- 139 - INGBAR S.H. - 1958
Pre-albumin : a thyroxine-binding protein of human plasma.
Endocrinology 63 : 256.
- 140 - INGBAR S.H. - 1960
The interaction of the thyroid hormones with the proteins of human plasma.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 86 : 440

- 141 - INGBAR S. H. - 1961
Clinical and physiological observations in a patient with an idiopathic decrease in the thyroxine-binding globulin of plasma.
J. Clin. Invest. 40 : 2053
- 142 - INGBAR S. H. - 1963
Observations concerning the binding of thyroid hormone by human serum pre-albumin.
J. Clin. Invest. 42 : 143
- 143 - INGBAR S. H., et FREINKEL N. - 1955
The influence of ACTH, cortisone, and hydrocortisone on the distribution and peripheral metabolism of thyroxine.
J. Clin. Invest. 34 : 1375
- 144 - INGBAR S. H. et FREINKEL N. - 1960
" Hormones in Human Plasma, Nature and Transport ", H. N. ANTONIADES, éd. Little Brown et Co. Boston. Mass. cinquième partie, chap. 15 - Thyroid Hormones p.515 à 579
- 145 - INGBAR S. H., BRAVERMAN LE., DAWBER NA. et LEE GY. - 1965
A new method for measuring the free thyroid hormone in human serum and an analysis of the factors that influence its concentration.
J. Clin. Invest. 44 : 1679
- 146 - INGBAR S. H., DOWLING J. T. et FREINKEL N. - 1957
The purification of thyroxine-binding protein by ion-exchange resins.
Endocrinology, 61 : 321
- 147 - INGBAR S. H., WATERHOUSE C. et CUSHMAN P. - 1964
Observations on the nature of the underlying disorder and the occurrence of associated plasma transport abnormalities in a patient with an idiopathic increase in the plasma thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Invest. 43: 2266.
- 148 - IRVINE C. H., - 1967
Thyroxine secretion rate in the horse in various physiological states.
J. Endoc. 39 : 313
- 149 - ISSELBACHER K. J. - 1956
Enzymatic mechanisms of hormone metabolism. II. Mechanism of hormonal glucuronide formation.
Rec. Prog. in Horm. Res., 12 : 134.
- 150 - IYER G. Y. N., et QUASTEL J. H. - 1963
NADPH et NADH oxidation by guinea pig polymorphnuclear leucocytes.
Can. J. Biochem. et Physiol. 41 : 427.

- 151 - JONES J.E. et SEAL U.S. - 1967
X - Chromosome linked inheritance of elevated thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 1521
- 152 - JOURDE H. - 1963.
L'apport des résines échangeuses d'ions dans l'exploration fonctionnelle de l'hormonogenèse thyroïdienne. Etude expérimentale et statistique ; comparaison avec l'index globulaire (H/P).
Thèse Médecine, Clermont, 1963.
- 153 - KATZ F.H. et OPPENHEIMER J.H. - 1963
Idiopathic elevation of serum thyroxine-binding alpha-globulin capacity : report of a case and comment on incidence.
Aerospace Medicine 34 : 1152
- 154 - KAUFMAN S. - 1958
A new cofactor required for the enzymatic conversion of phenylalanine to tyrosine.
J. Biol. Chem. 230 : 931
- 155 - KAUFMAN S. - 1959
Studies on the mechanism of the enzymatic conversion of phenylalanine to tyrosine.
J. Biol. Chem. 234 : 2677
- 156 - KEATING F.R. Jr, et ALBERT A. - 1949
The metabolism of iodine in man as disclosed with the use of radioiodine.
Rec. Prog. in Horm. Res. 4 : 429
- 157 - KLEBANOFF S.J., YIP C., et KESSLER - 1962
The iodination of tyrosine by beef thyroid preparation.
Biochim. Biophys. Acta. 58 : 563
- 158 - KLEBANOFF S.J. - 1960
Reduced pyridine nucleotides as activators of certain reactions catalyzed by Peroxidase.
Biochim. Biophys. Acta 44 : 501
- 159 - KLEIN E. - 1960
Über die Beziehungen zwischen dem thyreoïdalen und peripheren Jodstoffwechsel bei Schilddrüsengesunden und Hyperthyreosen.
Acta Endoc. 34 : 137
- 160 - KRACHT J. et KRACHT U. - 1951
Zum Histochemischen Peroxydasenachweis in der Schilddrüse unter normalen und pathologischen Bedingungen
Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 213 : 429
- 161 - KYDD D.M. et MAN E.B. - 1951
Precipitable iodine of serum (SPI) in disorders of liver.
J. Clin. Invest. 30 : 874

- 162 - KYDD D.M., MAN E.B., et PETERS J.P. - 1950
Concentration of precipitable iodine in serum.
J. Clin. Invest. 29 : 1033
- 163 - LABRIE F., PELLETIER G. et FORTIER C. - 1966
Rôle central de la thyroxine dans le contrôle hormonal de
la liaison transcortine-corticostérone et de l'activité hypophyso-
surrénalienne chez le rat.
Union Méd. Canada 95 : 1451
- 164 - LABRIE F., RAYNAUD J.P., DUCOMMUN P., et FORTIER C. -
1964
Influence of thyroid activity on corticosterone binding by plasma
proteins.
Proc. Can. Fed. Biol. Soc. 7 : 44
- 165 - LABRIE F., PELLETIER G., LABRIE R., HO-KIM M.A.,
DELGADO A. Mc INTOSH B. et FORTIER C. - 1968
Liaison transcortine-corticostérone et contrôle de l'activité
hypophyso-surrénalienne chez le rat. Interactions hypophyse-
thyroïde-surrénale-gonades.
Ann. Endoc. (Paris) 29 : 29
- 166 - LARDY H. - 1955
Effect of thyroid hormones on enzyme systems ,
dans : The Thyroid, Brookhaven Symposia in Biology, 1955,
No. 7, p. 94
- 167 - LASHOF J.C., BONDY P.K., STERLING K. et MAN E.B. -
1954
Effect of muscular exercise on circulating thyroid hormone.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86 : 233
- 168 - LARSON F.C., TOMITA K. et ALBRIGHT E.C. - 1959
In vitro metabolism of D - thyroxine.
Endocrinology, 65 : 336.
- 169 - LARSON F., DEISS W.P., ALBRIGHT E.C. - 1952.
Localization of protein-bound radioactive iodine by filter
paper electrophoresis.
Science 115 : 626
- 170 - LEMARCHAND-BERAUD T. et VANNOTTI A. - 1969
Relationships between blood thyrotrophin level, protein-bound
iodine, and free thyroxine concentration in man under normal
physiological conditions.
Acta Endoc. 60 : 315
- 171 - LEMARCHAND-BERAUD T., ASSAYAH M.R. et VANNOTTI A. -
1964
Alterations of thyroxine-binding proteins in clinically hypo -
and hyperthyroid patients with normal PBI level.
Acta Endoc. 45 : 99

- 172 - LERMAN J. - 1940
Iodine components of blood. Circulating thyroglobulin in normal persons and in persons with thyroid disease.
J. Clin. Invest. 19 : 555
- 173 - LIEWENDAHL K. et LAMBERG B.A. - 1965
Free thyroxine in serum determined by dialysis and Sephadex G 25 filtration.
J. Clin. Endoc. Metab. 25 : 991
- 174 - LISSITZKY S. , - 1960
Métabolisme cellulaire des hormones thyroïdiennes et désiodation.
Bull. Soc. Chim. Biol. 42 : 1187
- 175 - LISSITZKY S. , ROQUES M. et BENEVENT M.T. - 1961
Desiodation enzymatique de la thyroxine et de ses dérivés. I - Purification et propriétés de la thyroxine-désiodase du muscle de lapin.
Bull. Soc. Chim. Biol. 43 : 727
- 176 - LISSITZKY S. , BENEVENT M.T. , ROQUES M. et ROCHE J. 1959
Sur la désiodation des iodotyrosines et des hormones thyroïdiennes par le foie de rat. Démonstration des produits formés.
Bull. Soc. Chim. Biol. 41 : 1329
- 177 - LISSITZKY S. et VIGNE J. - 1959
Sur la distribution plasmatique des hormones thyroïdiennes à la fin de la grossesse et chez le jeune animal (mouton et rat).
Ann. Endoc. 20 : 506.
- 178 - LISSITZKY S. , BISMUTH J. et ROLLAND M. - 1962
Séparation des composés iodés du sérum et de la thyroïde par filtration sur gel de dextrane (séphadex).
Clin. Chim. Acta. 7 : 183
- 179 - LISSITZKY S. , ROQUES M. , TORRESANI J. , SIMON C. et BOUCHILLOUX S. -
Iodination and biosynthesis of rat thyroglobulin.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 16 : 249
- 180 - LOHSS et KALLEE E. - 1961
Protides Biol. Fluids Proc. p. 142.8e coll. Bruges.
- 181 - MALOOF F. , SATO G. , et SOODAK M. - 1964
Dissociation of iodination from protein synthesis in the rat thyroid.
Medicine 43 : 375
- 182 - MALVAUX P. , DE NAYER Ph. , BECKERS C. , VAN DEN SCHRIECK H.G. et DEVISSCHER M. - 1966
Serum free thyroxine and thyroxine binding in male adolescents.
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 459

- 183 - MAN E. B. - 1962
Differences in serum butanol-extractable iodines (BEIs)
of children, men and women.
J. Lab. Clin. Med. 59 : 528.
- 184 - MAN E. B., HEINEMANN M., JOHNSON C. E., LEARY D. C.
et PETERS J. P. - 1951
The precipitable iodine of serum in normal pregnancy, and its
relation to abortions.
J. Clin. Invest. 30 : 137
- 185 - MAN, EB. et BONDY P. K. - 1957
Clinical significance of serum butanol-extractable iodine.
J. Clin. Endoc. Metab. 17 : 1373
- 186 - MAN E. B., REID W. A. et JONES W. S. - 1964
Thyroid function in human pregnancy. I. The significance of
serum butanol-extractable iodines in the last trimester.
Am. J. Obstet. Gynec. 90 : 474
- 187 - MANTE-BOUSCAYROL S., CARTOUZOU G., DEPIEDS R.,
et LISSITZKY S. - 1962
Electrophoretic characterization of cellular thyroxine-binding
proteins = Skeletal muscle and brain of rabbit.
Gen. Comp. Endoc. 2 : 193
- 188 - MARSHALL J. S., LEVY R. P. et STEINBERG A. G. - 1966
Human Thyroxine-binding globulin deficiency : a genetic study.
New Eng. J. Med. 274 : 1469
- 189 - MARSHALL J. S. et TOMPKINS L. S. - 1968
Effect of o,p'-DDD and similar compounds on thyroxine-
binding globulin.
J. Clin. Endoc. Metab. 28 : 386
- 190 - MARGOLESE M. S. et GOLUB O. J. - 1957
Daily fluctuation of the serum protein-bound iodine level.
J. Clin. Endoc. Metab. 17 : 849
- 191 - MATSUDA K., et GREER M. A. - 1965
Nature of thyroid secretion in the Rat and the manner in
which it is altered by thyrotropin.
Endocrinology 76 : 1012
- 192 - MELTZER R. I. et STANABACK R. J. - 1961
J. Org. Chem. 26 : 1977
- 193 - MERTZ D. P. et ISELEY W. - 1964
Tagesperiodische Änderungen der Dynamik des endogenen
Jodstoffwechsels.
Med. Klin. 59 : 1536

- 194 - MEYNIEL G. - 1958
L'utilisation des résines échangeuses d'ions pour l'étude de la cinétique de formation des tyrosines et thyronines iodées dans la glande thyroïde.
Thèse Sciences, Bordeaux.
- 195 - MEYNIEL G., DELOST P., BERGER J.A., BLANQUET P., ARNAUD R.N. et RIGAUDIERE N. - 1966
Action du tyrosyl-tyrosine tétra-iodé sur la consommation d'oxygène du rat.
Compt. Rend. Soc. Biol. 160 : 981
- 196 - MICHEL R. et ETLING N. - 1957
Sur la présence de petites quantités d'acide 3.5.3' triiodothyroacétique dans la bile du rat après administration de L-3.5.3' triiodothyronine.
Compt. Rend. Soc. Biol. 151 : 36
- 197 - MICHEL R., PITT-RIVERS R., ROCHE J. et VARRONE S. - 1962
Sur la formation d'acide 3.5.3' triiodothyroacétique à partir de 3.5.3' triiodo-L-thyronine.
Biochim. Biophys. Acta 57 : 335
- 198 - MICHELOT J., MEYNIEL G., GAILLARD G., BERGER J.A. et BLANQUET P. - 1968
L'épuration sanguine du tyrosyl-tyrosine tétra-iodé (TT₄₋₁₂₅I) marqué à l'iode 125.
Compt. Rend. Soc. Biol. 162 : 1795
- 199 - MICHELOT J., MEYNIEL G., GAILLARD G., BERGER J.A. et BLANQUET P. - 1969
Etude de la fixation et de la déshalogénéation du tyrosyl-tyrosine tétra-iodé marqué à l'iode 125.
Compt. Rend. Soc. Biol. 163 : 132.
- 200 - MITCHELL M.L. et O'ROURKE M.E. - 1958
Resin uptake of radiothyroxine in sera from non-pregnant and pregnant women.
J. Clin. Endoc. Metab. 18 : 1437
- 201 - MICHENER W.M., TAUXE W.N. et HAYLES A.B., - 1962
Capacity of thyroxine-binding globulin to bind triiodothyronine and thyroxine in maternal and cord blood.
Pediatrics 29 : 369.
- 202 - MIYAI K., ITOH K.F., ABE H. et KUMAHARA Y., 1968.
Radioimmuno-electrophoretic analysis of thyroxine-binding proteins in normal human sera.
Clin. Chim. Acta, 22 : 341.

- 203 - HONEY W.L. - 1955
Brookhaven Symposia in Biol. 7 : 137
- 204 - MOULINIER G., BLANQUET P., MANDOUL R., CROIZET M., MEYNIEL G. et BERGER J.A. - 1964
Evolution post-embryonnaire du têtard de *Rana dalmatina* sous l'influence de diverses substances à action thyroïdienne.
Compt. Rend. Soc. Biol. 158 : 1869.
- 205 - MÜLLER R., BRAASCH C.C., HIRSCH E.Z., BENUA R.S. et DOBYNS B.M. - 1954
Uptake of radioactive iodine in the thyroïd of patients with impaired liver function.
J. Clin. Endoc. Metab. 14 : 1287
- 206 - MURPHY B. et PATTEE C.J. - 1964
Determination of thyroxine utilizing the property of protein-binding.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 187
- 207 - MURPHY B.E.P., PATTEE C.J. et GOLD A. - 1966
Clinical evaluation of new method for the determination of Serum Thyroxine.
J. Clin. Endoc. 26 : 247
- 208 - MYANT N.B. - 1957
Relation between the biliary clearance rate of thyroxine and the binding of thyroxine by the serum proteins.
J. Physiol. (Londres) 135 : 426
- 209 - MYANT N.B. et OSORIO C. - 1959
Serum proteins, including thyroxine-binding proteins, in maternal and foetal rabbits.
J. Physiol. 146 : 344
- 210 - MYANT N.B. et OSORIO C. - 1960
Observations on filter-paper electrophoresis of thyroxine in barbiturate buffer.
J. Physiol. 152 : 391
Paper electrophoresis of thyroxine in Tris-maleate buffer
J. Physiol. 152 : 601
- 211 - MYANT N.B. et OSORIO C. - 1960
The passage of thyroxine-binding substances between mother and foetus in pregnant rabbits.
J. Physiol. 151 : 66
- 212 - NADLER N.J., BENARD B., LEBLOND C.P., et FITZSIMONS G. - 1968
Dynamics on inorganic iodide entry into thyroid follicles by radioautography.
IIIrd Int. Cong. of Endocrinology - Mexico DF 1968
Excerpta Medica Int. Cong. Ser. n° 157, Abstr. n° 477.

- 213 - NADLER N. J., BENARD B., LEBLOND C. P. - 1966
Radioautographic localization of inorganic iodide in the thyroid gland.
Anatomical Record 154 : 392
- 214 - NADLER N. J., SARKAR S. J., et LEBLOND C. P. - 1962
Origin of intracellular colloid droplets in the rat thyroid.
Endocrinology 71 : 120
- 215 - NADLER N. J. et LEBLOND C. P. - 1958
Rates of passage of iodine into and out of the thyroid gland of the rat under various conditions of dietary iodine intake and body weight.
Endocrinology 62 : 768
- 216 - NADLER N. J., et LEBLOND C. P. - 1955
The site and rate of formation of thyroid hormone.
Dans :The Thyroid (Report of Symposium, held June 9 to 11, 1954).
Upton, New-York, Brookhaven Nal Laboratory, 1955, p. 40
- 217 - NADLER N. J., YOUNG B. A., LEBLOND C. P. et MITMAKER B. - 1964.
Elaboration of Thyroglobulin in the Thyroid Follicle.
Endocrinology 74 : 333
- 218 - NAUMAN J. A., NAUMAN A. et WERNER S. C. - 1967
Total and free triiodothyronine in human serum.
J. Clin. Invest. 46 : 1346
- 219 - DE NAYER P., MALVAUX P., OSTYN M., VAN DEN SCHRIECK H. G. et DE VISSCHER M. - 1965
Trav. Soc. Med. Belge 18 : 1
- 220 - DE NAYER P., VAN DEN SCHRIECK H. G. et DE VISSCHER M. - 1965
Le transport sérique de la thyroxine chez l'enfant.
Ann. Endoc. 26 : 360
- 221 - DE NAYER P., MALVAUX P., VAN DEN SCHRIECK H. G., BECKERS C. et DE VISSCHER M. - 1966
Free thyroxine in maternal and cord blood.
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 233
- 222 - NEMETH VON S. - 1958
Frühveränderungen im Serumspiegel des eiweissgebundenen Jods beim Menschen nach unspezifischen Eingriffen ; Wirkung von Fieber- und Elektroschocktherapie.
Schweiz. Med. Wochenschr. 88 : 242
- 223 - NEUHAUS O. W. et SOGOIAN V. - 1959
The Thyroxine - binding protein of bovine synovial fluid.
J. Biol. Chem. 234 : 821

- 224 - NICOLOFF J. T., NICOLOFF R. et DOWLING J. T. - 1962
Evaluation of vaginal smear, serum gonadotropin, protein-bound iodine, and thyroxine binding as measures of placental adequacy.
J. Clin. Invest. 41 : 1998
- 225 - NICOLOFF J. T., DOWLING J. T. et PATTON D. D. - 1964
Inheritance of decreased thyroxine-binding by the thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 294
- 226 - NIKOLAI T. F. et SEAL U. S. - 1966
X - Chromosome linked familial decrease in thyroxine-binding globulin activity.
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 835
- 227 - NIKOLAI T. F. et SEAL U. S. - 1967
X - Chromosome linked inheritance of thyroxine-binding globulin deficiency.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 1515
- 228 - NUNEZ J., MAUCHAMP J., POMMIER J., CIRCOVIC T. et ROCHE J. - 1966
Relationship between iodination and conformation of thyroglobulin.
Biochem. Biophys. Res. Com. 23 : 761
- 229 - ODDIE T. H., INST F., MELBY J. C. et SCROGGS J. E. - 1962
Statistical analyses of radioiodine and protein-bound iodine test results on Arkansas thyroid patients.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 1138
- 230 - ODELL W. D., BATES R. W., RIVLIN R. S., LIPSETT M. B. et HERTZ R. - 1963
Increased thyroid function without clinical hyperthyroidism in patients with choriocarcinoma.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 658
- 231 - OPPENHEIMER J. H., BERNSTEIN G. et HASEN J. - 1967
Estimation of rapidly exchangeable cellular thyroxine from plasma disappearance curves of simultaneously administered ^{131}I -T₄ and ^{125}I -Albumin.
J. Clin. Invest 46 : 762
- 232 - OPPENHEIMER J. H. et SURKS M. I. - 1964
Determination of free thyroxine in human serum : a theoretical and experimental analysis.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 785
- 233 - OPPENHEIMER J. H., BERNSTEIN G. B. et SURKS M. I. - 1968
Increased thyroxine turnover and thyroidal function following stimulation of hepatocellular binding of thyroxine by phenobarbital.
J. Clin. Invest. 47 : 1399

- 234 - OPPENHEIMER J.H. - 1968
Role of plasma proteins in the binding, distribution, and metabolism of the thyroid hormones.
New Eng. J. Med. 278 : 1153
- 235 - OPPENHEIMER J.H., MARTINEZ M. et BERNSTEIN G. - 1966
Determination of the maximal binding capacity and protein concentration of thyroxine-binding prealbumin in human serum.
J. Lab. Clin. Med. 67 : 500
- 236 - OPPENHEIMER J.H., FISHER L.V., NELSON K.M. et JAILER J.W. - 1961
Depression of the serum protein-bound iodine level by diphénylhydantoïn.
J. Clin. Endoc. Metab. 21 : 252
- 237 - OPPENHEIMER J.H., SURKS M.I., SMITH J.C. et SQUEF R. - 1965
Isolation and characterization of human thyroxine-binding prealbumin.
J. Biol. Chem. 240 : 173
- 238 - OPPENHEIMER J.H., SQUEF R., SURKS M.I. et HAUER H. - 1963
Binding of thyroxine by serum proteins evaluated by equilibrium dialysis and electrophoretic techniques : alterations in non-thyroidal illness.
J. Clin. Invest. 42 : 1769
- 239 - OWEN C.A. et Mc CONAHEY W.M. - 1956
An unusual iodinated protein of the serum in Hashimoto's thyroiditis.
J. Clin. Endoc. Metab. 16 : 1570
- 240 - PARROW A. - 1962
The plasma protein-binding of triiodothyronine and its relation to the uptake of 131 - I labelled triiodothyronine by human erythrocytes in vitro.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14 : 192
- 241 - PERRY R.E., HODGMAN J.E. et STARR P. - 1965
Maternal, cord, and serial venous blood : protein-bound iodine, thyroid-binding globulin, thyroid-binding albumin, and prealbumin values in premature infants.
Pediatrics 35 : 759
- 242 - PETERMANN, M.L., ROBBINS J. et HAMILTON M.G. - 1954
Sedimentation of the thyroxine-binding protein of serum in the partition cell.
J. Biol. Chem. 208 : 369

- 243 - PETERS J. P. et MAN E. B. - 1948
Relation of albumin to precipitable iodine of serum.
J. Clin. Invest. 27 : 397
- 244 - PILEGGI V. J., SEGAL H. A. et GOLUB O. J. - 1964
Determination of organic iodine compounds in serum.
Iodotyrosines in normal human serum.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 273
- 245 - PITT-RIVERS R. - 1962
Iodine metabolism in the thyroid gland of the rat.
Biochem. J. 82 : 108
- 246 - PITT-RIVERS R. et TROTTER W. R. - 1953
Site of accumulation of iodide in thyroid of rats treated with
thiouracil.
Lancet 2 : 918
- 247 - PLASKETT L. G. - 1961
Determination of the distribution of ^{131}I in biosynthetically
labelled ^{131}I - thyroxine isolated from the thyroid gland of
rabbits and rats.
Biochem. J. 78 : 649
- 248 - PLASKETT L. G. - 1962
Catabolism of doubly labelled thyroxine in vivo.
Nature 195 : 961
- 249 - PREMACHANDRA B. N., ROY A. K., HIRATA Y. et BLUMEN-
THAL H. T. - 1963
Electrophoretic studies of thyroxine and triiodothyronine-binding
by the sera of guinea-pigs immunized against thyroglobulin.
Endocrinology 73 : 135
- 250 - PURDY R. H., WOEBER K. A., HOLLOMAY M. T. et INGBAR
S. H. - 1965
Preparation of crystalline thyroxine-binding prealbumin from
human plasma.
Biochemistry 4 : 1888
- 251 - RABINOVITCH B. - 1959
The effects of iodination on the binding of thyroxine by human
serum albumin.
J. Am. Chem. Soc. 81 : 1883
- 252 - RALL J. E. - 1965
Proceedings IInd Int. Cong. of Endoc. P. 332
Excerpta Medica, Amsterdam.
- 253 - RALL J. E. et CONARD R. A. - 1966
Elevation of the serum protein-bound iodine level in inhabitants
of the Marshall islands.
Am. J. Med. 40 : 883

- 254 - RALL J. E., ROBBINS J., LEWALLEN C. G. - 1964
"The Hormones", de G. PINCUS, K. V. THIMANN et E. B. ASTWOOD Ed.
Academic Press, New York et Londres
The Thyroid chap. 3, p. 159-439 - 2013 réf.
- 255 - RAPPORT R. L. et CURTIS G. M. - 1950
The clinical significance of the blood iodine : a review.
J. Clin. Endoc. Metab. 10 : 735
- 256 - RAUB J. L., KNOX M. D. et GOLDSMITH R. - 1964
Effect of sexual maturity on the serum concentration of hormonal iodine in adolescence.
J. Pediat. 64 : 697
- 257 - RECONT L. et RIGGS D. S. - 1952
Thyroid function in nephrosis.
J. Clin. Invest. 31 : 789
- 258 - REICHLIN S. et O'NEAL L. W. - 1962
Thyroid hormone levels of the blood after electroshock-induced convulsions in man.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 385
- 259 - REINWEIN D. - 1964
Hormonsynthese und Enzymspektrum bei Erkrankungen der menschlichen Schilddrüse.
Acta Endoc. 47 : Suppl. 94 : 1
- 260 - RICH C. et BEARN A. G. - 1958
Localization of thyroxine-binding proteins of serum by starch gel electrophoresis.
Endocrinology 62 : 687.
- 261 - RIGGS D. S., LAVIETES P. H. et MAN E. B. - 1942
Investigations on the nature of blood iodine.
J. Biol. Chem. 143 : 363
- 262 - RIGGS D. S., MAN E. B. et WINKLER A. W. - 1945
Serum iodide of euthyroid subjects treated with desiccated thyroid.
J. Clin. Invest. 24 : 722
- 263 - ROBBINS J. - 1956
Reverse flow zone electrophoresis. A method for determining the thyroxine-binding capacity of serum protein.
- 264 - ROBBINS L. R. et MURPHY M. E. - 1959
Experience with the in vitro erythrocyte uptake of ^{131}I - labeled L - triiodothyronine in a routine clinical laboratory.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 1292
- 265 - ROBBINS J. et NELSON J. H. - 1958
Thyroxine-binding by serum protein in pregnancy and in the newborn.
J. Clin. Invest. 37 : 153

- 266 - ROBBINS J. 1954
Thyroglobulin in serum after ¹³¹I - therapy.
J. Biol. Chem. 208 : 377
- 267 - ROBBINS J. et RALL J.E. - 1960
Proteins associated with the thyroid hormones,
Physiol. Rev. 40 : 415 - 482 avec 456 réf.
- 268 - ROBBINS J. et RALL J.E. - 1967
"Hormones in Blood", GRAY et BACHARACH éditeurs
Academic Press, Londres et New-York
Volume 1, chap. 15 - The Iodine Containing Hormones, p.
383 à 490 - 780 réf.
- 269 - ROBBINS J., RALL J.E. - 1952
Zone electrophoresis in filter paper of serum I ¹³¹ after
radioiodide administration.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81 : 530
- 270 - ROBBINS J. et RALL J.E. - 1955
Thyroxine-binding capacity of serum in normal man.
J. Clin. Invest. 34 : 1324
- 271 - ROBBINS J. et RALL J.E. - 1957
The Interaction of Thyroid Hormones and Proteins in Biological
Fluids.
Rec. Prog. Horm. Research 13 : 161
- 272 - ROBBINS J. et RALL J.E. - 1960
Proteins associated with the thyroid hormones
Physiol. Review 40 : 415
- 273 - ROBBINS J., RALL J.E. - 1957
II. Hormone transport in circulation : interaction of thyroid
hormones and proteins in biological fluids.
Rec. Prog. In Horm. Res. 13 : 161-208
- 274 - ROBBINS J., RALL J.E. et RAWSON R.W. - 1956
An unusual instance of thyroxine-binding by human Serum Gamma
globulin.
J. Clin. Endoc. Metab. 16 : 573
- 275 - DE ROBERTIS E. et GRASSO R. - 1946
Peroxydase activity of the thyroid gland under normal and
experimental conditions.
Endocrinology 38 : 137
- 276 - ROCHE J., MICHEL R. et TATA J. - 1952
Sur le métabolisme de la L-Thyroxine marquée par l'iode radio-
actif en différentes positions.
C.R. Soc. Biol. 146 : 1003

- 277 - ROCHE J., NUNEZ J. et JACQUEMIN C. - 1962
Nature des produits de la désiodation des hormones thyroïdiennes marquées simultanément par le tritium et l'iode radio-actif
Biochim. Biophys. Acta 64 : 475
- 278 - ROCHE J., MICHEL R. et TATA J. - 1954
Sur la nature des combinaisons iodées excrétées par le foie et le rein après administration de L.-Thyroxine et de L. - 3.5.3.' Triiodothyronine.
Biochim. Biophys. Acta. 15 : 500
- 279 - ROCHE J., MICHEL R. et JOUAN P. - 1956
Sur la présence d'acide 3.5.3' - Triiodothyroacétique et de 3.3' - Diiodothyronine dans le muscle après administration de L : 3'5.3' triiodothyronine au rat.
Bull. Soc. Chim. Biol. 38 : 941.
- 280 - ROCHE J., ANDREOLI M. et SALVATORE G. - 1967
Interaction hormones thyroïdiennes - protéines plasmatiques et transport sanguin des hormones.
Ann. Biol. Clin. 25 : 597
- 281 - ROCHE J. et MICHEL R. - 1960
On the peripheral metabolism of thyroid hormones.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 86 : 454.
- 282 - ROCHE J., MICHEL R. et TATA J.R. - 1954
Sur la nature des combinaisons iodées excrétées par le foie et le rein après administration de L-thyroxine et de L-3.5.3' triiodothyronine.
Biochim. Biophys. Acta. 15 : 500
- 283 - ROSIN A.J. et EXTON - SMITH A.N. - 1964
Clinical features of accidental hypothermia, with some observations on thyroid function.
Br. Med. J. 5374 : 16
- 284 - ROSS J.E. et TAPLEY D.F. - 1966
Effect of various analogues on the binding of labeled thyroxine to thyroxin-binding globulin and prealbumin.
Endocrinology, 79 : 493
- 285 - ROTH J., GLICK S.M., CUATRECASAS P. et HOLLANDER C.S. 1967
Acromegaly and other disorders of growth hormone secretion. Combined clinical staff conference at the National Institute of Health.
Ann. Int. Med. 66 : 760
- 286 - DU RUISSEAU J.P. - 1965
Seasonal variation of PBI in healthy Montrealers.
J. Clin. Endoc. Metab. 25 : 1513

- 287 - SALTER W. T. - 1949
The metabolic circuit of the thyroid hormone.
Ann. New-York Acad. Sci. 50 : 358
- 288 - SALTER W. T. - 1940
The endocrine function of iodide.
Cambridge, Harvard University Press
- 289 - SALTER W. T. -
Trans. Amer. Ass. Study of Goiter, 1942 - 1946 p. 145.
Thomas éd.
- 290 - SARCIONE E. J. et AUNGST C. W. - 1962
Bisalbumineamia associated with thyroxine-binding effect.
Clin. Chim. Acta 7 : 297
- 291 - SALVATORE G. - 1964
Pénétration intra-cellulaire des hormones thyroïdiennes.
Exp. Ann. de Bioch. Méd. 25ème Série, P. 99-Masson éd.
- 292 - SCAZZIGA B. R., BARBIERI L. L. et BERAUD T. - 1955
La fonction thyroïdienne dans les affections du parenchyme
hépatique.
Schweiz Med. Wochenschr. 85 : 471
- 293 - SCHATZ D. L. et VOLPE R. - 1959
Lack of diurnal variation in the level of serum protein-bound
iodine.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 1495
- 294 - SCHATZ D. L. - 1967
Serum free thyroxine and thyroxine-binding protein studies
in patients with supraventricular tachycardias.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 165
- 295 - SCHATZ D. L., CHANDERLAPATY C. S., SHEPPARD R. H. et
STEINER C. 1967
Influence of heparin on serum free thyroxine.
Programme du Congrès de l'Am. Thy. Assoc. Abstract. p. 39
- 296 - SCHULTZ A. L., et ZIEVE L. - 1958
Thyroid clearance, uptake, and rate of uptake of radioiodine
in hyperthyroidism : their interrelationships and diagnostic
value.
J. Clin. Endoc. Metab. 18 : 629
- 297 - SCHULTZE A. C., SCHÖNEN BERGER M. et SCHWICK G. - 1956
Über ein Präalbumin des menschlichen Serums.
Biochem. Z. 328 : 267
- 298 - SCHUSSLER G. C. et INGBAR S. H. - 1961
The role of intermediary carbohydrate metabolism in regulating
organic iodinations in the thyroid gland.
J. Clin. Invest. 40 : 1394

- 299 - SCHUSSLER G.C. et VANCE V..K. - 1968
Effect of Thyroid - suppressive doses of Triiodothyronine on thyroxine turnover and on the free thyroxine fraction.
J. Clin. Invest. 47 : 720
- 300 - SCHUSSLER G.C. et PLAGER J.E. - 1967
Effect of preliminary purification of ^{131}I - thyroxine on the determination of free thyroxine in serum.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 242
- 301 - SCHWARTZ A.E. et ROBERTS K.E. - 1957
Alterations in thyroid function following surgical trauma.
Surgery 42 : 814
- 302 - SEAL U.S. et DOE R.P. - 1964
Proc. Second Int. Congress of Endoc. Londres, 1964
Excerpta medica, Amsterdam 1965 : p. 325
- 303 - SCHWEITZER G.K. et VAN WILLIS W. - 1966
The Solvent Extraction of Metal Chelates. p. 169 - 219
dans : "Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation".
Vol. 5 - Interscience Publishers, 1966
- 304 - SEED R.W. et GOLDBERG I.H. - 1963
Biosynthesis of thyroglobulin : Relation ship to RNA - template and precursor protein.
Proc. Nat. Acad. Sc. 50 : 275
- 305 - SEED R.W. et GOLDBERG I.H. - 1965
Biosynthesis of Thyroglobulin.
II - Role of subunits, iodination, and Ribonucleic Acid Synthesis.
J. Biol. Chem. 240 : 764
- 306 - SHETLAR M.R. - 1961
Serum glycoproteins : their origin and significance.
Ann. N.Y. Acad. Sci 94 : 44.
- 307 - SHIBA T., et CAHNMANN J.H. - 1964
J. Org. Chem. 29 : 1652
- 308 - SHIMAOKA K. - 1963
Toxic adenoma of the thyroïd, with triiodothyronine as the principal circulationg thyroïd hormone.
Acta Endoc. 43 : 285
- 309 - SILVER S. - 1941
Nature of the blood iodine. II. Nature of the plasma iodine.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46 : 213
- 310 - SKANSE B. - 1949
Radioactive iodine in diagnosis of thyroïd disease.
Acta Med.Scand. Suppl. 235, 136 : 1

- 311 - SLEBODZINSKI A. - 1965
Interaction between thyroid hormone and thyroxine-binding proteins in the early neonatal period.
J. Endoc. 32 : 45
- 312 - SOCOLOW E. L., WOEBER K. A., PURDY R. H., HOLLO-WAY M. T., et INGBAR S. H. - 1965
Preparation of ^{131}I - labeled human serum prealbumin and its metabolism in normal and sick patients.
J. Clin. Invest. 44 : 1600
- 313 - SODERBERG U. - 1959
Temporal characteristics of thyroid activity.
Physiol. Rev. 39: 777
- 314 - SOGANI M. - 1958
J. Biochem. (Tokyo) 45 : 461
- 315 - SPROTT W. E. et MAC LAGAN N. F. - 1955
The deiodination of thyroxine and triiodothyronine in vitro.
Biochem. J. 59 : 288
- 316 - STANBURY J. B., MORRIS M. L., CORRIGAN H. J. et LAS-SITER W. E. - 1960
Thyroxine deiodination by a microsomal preparation requiring ferrous ions, oxygen, and cysteine or glutathione.
Endocrinology 67 : 353
- 317 - STANBURY J. B. - 1960
Deiodination of the iodinated Amino-Acids.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 86 : 417
- 318 - STANBURY J. B. et JANSSEN M. A. 1963
Labeled iodoalbumin in the plasma in thyrotoxicosis after I 125 and I 131
J. Clin. Endoc. Metab. 23 : 1056
- 319 - STARR P. - 1967
The effect of thyroxine on ovulation and associated mechanisms
In : Ovulation
- 320 - STEIN O. et GROSS J. - 1964
Metabolism of ^{125}I in the thyroid gland studied with electron microscopic autoradiography.
Endocrinology 75 : 787
- 321 - STEINER R. F., ROTH J. et ROBBINS J. - 1966
The binding of thyroxine by serum albumin as measured by fluorescence quenching.
J. Biol. Chem. 241 : 560
- 322 - STERLING K., BRENNER M. A. et ROSE H. G. - 1965
Isolation of lipoproteins from thyroxin-labeled human serum.
Endocrinology, 77 : 398

- 323 - STERLING K. et BRENNER M.A. - 1966
Free thyroxine in human serum : simplified measurement with the aid of magnesium precipitation.
J. Clin. Invest. 45 : 153
- 324 - STERLING K. et TABACHNIK M. - 1961
Paper electrophoretic demonstration of thyroxine-binding prealbumin fraction in serum.
Endocrinology 68 : 1073
- 325 - STERLING K. et HEGEDUS A. - 1962
Measurement of free thyroxine concentration in human serum.
J. Clin. Invest. 41 : 1031
- 326 - STERLING K. - 1964
Thyroxine in blood.
Mayo Clinic Proceedings 39 : 586
- 327 - STERLING K. et CHODOS R.B. - 1956
Radiothyroxine turn-over studies in myxoedema, thyrotoxicosis, and hypermetabolism without endocrine disease.
J. Clin. Invest. 35 : 806
- 328 - STERLING K. - 1958
Radiothyroxine turnover studies in thyroid disease after therapy
J. Clin. Invest. 37 : 1348
- 329 - STOLC V. et POGADY J. - 1960
The effect of insulin and cardiazole-shock on protein-bound iodine in blood, studied in schizophrenic patients.
Acta Endoc. 34 : 157
- 330 - SURKS M.J. et OPPENHEIMER J.H. - 1964
Determination of free thyroxine in human serum. A theoretical and experimental analysis.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 785
- 331 - SURKS M.J. et OPPENHEIMER J.H. - 1964
Postoperative changes in the concentration of thyroxine-binding prealbumin and serum free thyroxine.
J. Clin. Endoc. Metab. 24 : 794
- 332 - SUZUKI M. - 1966
Pyridine Nucleotide and Iodination Reaction in the thyroid gland, dans : Physiological Control of Iodine Metabolism, p. 81
Gunma Symposia on Endocrinology Vol. 3 1966
- 333 - TABACHNIK M. - 1964
Thyroxine-protein interactions. I. Binding of thyroxine to human serum albumin and modified albumins.
J. Biol. Chem. 239 : 1242
- 334 - TABACHNIK M. - 1967
Thyroxine-protein interactions. IV. Thermodynamic values for the association of thyroxine with human serum albumin.
J. Biol. Chem. 242 : 1646

- 335 - TABACHNIK M., DOWNS F. et GIORGIO N.A. - 1965
Effect of bilirubin on binding of thyroxine by human serum albumin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 118 : 1180
- 336 - TANAKA S. et STARR P. - 1959
Clinical observations on serum globulin thyroxine-binding capacity, using a simplified technique.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 84
- 337 - TANAKA S. et STARR P. - 1959
A euthyroid man without thyroxine-binding globulin.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 485
- 338 - TANAKA S. et STARR P. - 1959
Excessive circulating thyroxine in euthyroid, non pregnant women with elevated thyroxine-binding globulin.
Metabolism 8 : 441
- 339 - TANAKA S. et STARR P. - 1959
The binding of thyroxine analogues by human serum protein
Acta Endoc. 31 : 161
- 340 - TATA J.R. - 1958
Enzymic deiodination of l-thyroxine and 3.5.3' tri-iodo-l-thyronine. Intracellular localization of " deiodinase " in rat brain and skeletal muscle.
Biochim. Biophys. Acta. 28 : 95.
- 341 - TATA JR. - 1960
The partial purification and properties of thyroxine deshalogenase.
Biochem. J. 77 : 214
- 342 - TATA J.R. - 1961
The purification of thyroxine-binding globulin and thyroxine-binding prealbumin.
Clin. Chim. Acta, 6 : 819
- 343 - TATA J.R. : 1962
Intracellular and extracellular mechanisms for the utilization and action of the thyroid hormones.
Rec. Prog. in Horm. Research 18 : 221.
- 344 - TATA J.R., RALL J.E. et RAWSON R.W. - 1957
Metabolism of L-Thyroxine and L-3.5.3' Triiodothyronine by brain tissue preparations.
Endocrinology, 60 : 83
- 345 - TATA Jr., WIDNELL C.C. et GRATZER W.B. - 1961
A systematic study of Factors affecting the Binding of thyroxine and related substances to serum proteins.
Clin. Chim. Acta 6 : 597

- 346 - TAUROG A. L. - 1955.
Conjugation and excretion of the hormone.
Brookhaven Symposia in Biology 7 : 111
- 347 - TAUROG A. - 1964
The biosynthesis of thyroxine.
Mayo Clinic Proceedings 39: 569
- 348 - TAUROG A. et CHAIKOFF I. L. - 1948
The nature of the circulating hormone.
J. Biol. Chem. 176 : 639
- 349 - TAUROG A. L. , BRIGGS F. et CHAIKOFF I. L. - 1952.
¹³¹I - labeled thyroxine. II. Nature of the excretion product in
bile.
J. Biol. Chem. 194 : 655
- 350 - TAUROG A. , PORTER J. C. et THIO D. T. - 1964
Nature of the ¹³¹I compounds released into the thyroid
Veins of Rabbits, dogs and cats, before and after TSH
Administration.
Endocrinology 74: 902
- 351 - THIEBLEMONT P. - 1961
Recherches sur la répartition des iodothyronines dans l'orga-
nisme et sur leur métabolisme.
Thèse Sciences, Paris.
- 352 - THORSON S. C. , TAUXE W. N. et TASWELL H. F. - 1966
Evidence for the existence of two thyroxine-binding-globulin
moieties, Correlation between Paper and Starch Gel Electropho-
retic patterns utilizing Thyroxine-Binding-Globulin-deficient sera.
J. Clin. Endoc. Metab. 26 : 181.
- 353 - TOI K. , SALVATORE G. , et CAHNMANN H. J. - 1963
Non enzymic synthesis of thyroxine résidues in thyroglobulin.
Biochim. Biophys. Acta 78 : 805
- 354 - TOMITA K. et LARDY H. A. - 1960
Enzymic conversion of iodinated thyronines to iodinated thy-
roacetic acids.
J. Biol. Chem. 235 : 3292
- 355 - TOMITA K. , LARDY H. A. , LARSON F. C. et ALBRIGHT E. C.
1957
Enzymatic conversion of thyroxine to tetraiodothyroacetic acid
and of triiodothyronine to triiodothyroacetic acid.
J. Biol. Chem. 224 : 387
- 356 - TONG W. , TAUROG A. et CHAIKOFF I. L. - 1957
Activation of the iodinating system in sheep thyroid particu-
late functions by Flavin Cofactors.
J. Biol. Chem. 227 : 773

- 357 - TONG W., KERKOF P. et CHAIKOFF I. L. - 1962
Iodine metabolism of dispersed thyroid cells obtained by trypsinisation of sheep thyroid glands.
Biochim. Biophys. Acta 60 : 1
Biochim. Biophys. Acta. 60 : 1
- 358 - TORIZUKA K., FLAK M. H. et STANBURY J. B. - 1964
Metabolic studies on experimental allergic thyroiditis.
Endocrinology 74 : 746
- 359 - TORO - GOYCO E. et MATOS M. - 1965
Abnormal iodoproteins in serum : separation by gel filtration.
J. Clin. Endoc. Metab. 25 : 916
- 360 - TORO-GOYCO E. et CANCIO M. - 1963
Plasma protein thyroid hormone complexes : separation by continuous flow paper electrophoresis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114 : 297
- 361 - TREVOROW V. - 1939
Studies on the Nature of the Iodine in Blood.
J. Biol. Chem. 127 : 797
- 362 - TRITSCH G. L. et TRITSCH N. E. - 1963
Thyroxine binding. I. The nature of the binding site of human serum albumin.
J. Biol. Chem. 238 : 138
- 363 - TRITSCH N. E. et TRITSCH G. L. - 1964
Abstract 18 - Proc. ann. meet. Amer. Thy. Assoc. - Rochester -
- 364 - TRITSCH G. L. et TRITSCH N. E. - 1965
Thyroxine-binding III : Chicken serum albumin, the principal thyroxine-binding protein in the chicken.
J. Biol. Chem. 240 : 3789
- 365 - TUCKER R. G. et KEYES A. - 1951
Concentration of serum protein-bound iodine in normal men.
J. Clin. Invest. 30 : 869
- 366 - VAN DEN SCHRIECK H. G., DE NAYER P., BECKERS C. et DE VISSCHER M. - 1965
Endemic goiter in the Veles : a study of thyroxine-binding proteins.
J. Clin. Endoc. Metab. 25 : 1643
- 367 - VANNOTTI A., BERAUD T. et CRUCHAUD J. - 1957
Le métabolisme de la thyroxine dans l'hépatite épidémique.
Gastroenterologia 87 : 129
- 368 - VANNOTTI A. et BERAUD T. - 1959
Functional relationship between the liver, the thyroxine-binding protein of serum, and the thyroid.
J. Clin. Endoc. Metab. 19 : 466

- 369 - VILLAMIL M. F. et MANCINI R. E. - 1947
Reaccion de la bencidina para cortes por congelacion de tejido fresco ; las peroxidadas en la tiroïdes normal y activada.
Rev. Soc. Argent. Biol. 23 : 215
- 370 - VOLPERT E. M., MARTINEZ M. et OPPENHEIMER J. H. - 1967
Radioiodinated Impurities in Commercial Preparations of I - ¹³¹
Thyroxine and their effect on the measurement of free thyroxine in Human Serum by Equilibrium Dialysis.
J. Clin. Endoc. Metab. 27 : 421
- 371 - WALFISH P. G., BRITTON A., VOLPE R., et EZRIN C. - 1962
Quantitative plasma binding capacity studies of thyroxine-binding globulin by use of a modification of the erythrocyte ¹³¹-I - L T ₃ Uptake test.
J. Clin. Endoc. Metab. 22 : 178
- 372 - WETZEL B., SPICER S. S. et WOLLMANN S. H. - 1965
Changes in fine structure and acid phosphatase localization in rat Thyroid cells following thyrotropin administration.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 25 : 593
- 373 - WILKINSON J. H., SPROTT W. E., BOWDEN C. H. et MAC LAGAN NF - 1954
The biological action of substances related to thyroxine.
8 - The effects of butyl-4-hydroxy-3, 5 diiodobenzoate on the deiodination of diiodotyrosine and thyroxine in rats.
Biochem. J. 56 : 215
- 374 - WILLIAMS R. H. et BAKKE J. L. - 1962
" Text book of Endocrinology " R. H. Williams, éditeur
W. B. Saunders Co. Philadelphie et Londres.
The Thyroid Chap. 4, p. 96-281 - 183 réf.
- 375 - WILSON D. - 1966
Fed. Proc. 25 : 1537
- 376 - WINIKOFF D. - 1957
The value of globulin-bound iodine determination in the differential diagnosis of thyroid disease.
Acta Endoc. 26 : 243
- 377 - WINN J., FABRIKANT I. et DEISS W. P. 1959
Arch. Biochem Biophys. 84 : 106
- 378 - WINZLER J. R. et NOTRICA S. R. - 1952
Association of Thyroxine with Plasma Proteins.
Federation Proc. 11 : 312
- 379 - WOEBER K. A. et INGBAR S. H. - 1965
Antithyroid effect of non-calorigenic congeners of salicylate with observations on the influence of serum proteins on the potency of antithyroid agents.
Endocrinology, 76 : 584

- 380 - WOEBER K.A. et INGBAR S.H. - 1968
The contribution of thyroxine-binding prealbumin/to the binding of thyroxine in human serum, as assessed by immunoadsorption.
J. Clin. Invest. 47 : 1710
- 381 - WOLFF J. - 1960
Thyroidal Iodide Transport, I. Cardiac glycosides and the role of potassium.
Biochim. Biophys. Acta. 38 : 316
- 382 - WOLFF J. - 1964
Transport of Iodide and Other Anions in the thyroid gland.
Physiol. Reviews 44 : 45
- 383 - WOLFF J., STANDAERT M.E. et RALL J.E. - 1961
Thyroxine displacement from serum proteins and depression of serum protein-bound iodine by certain drugs.
J. Clin. Invest. 40 : 1373
- 384 - WOLFF J. et HALMI N.S. - 1963
Thyroidal Iodide Transport.
V. The role of Na + K + activated, Ouabaïn-Sensitive Adenosinetriphosphatase activity.
J. Biol. Chem. 238 : 847
- 385 - WOLLMAN S.H. et WODINSKY I. - 1955
Localization of Protein-Bound I^{131} in the Thyroid Gland of the Mouse.
Endocrinology 56 : 9
- 386 - WOODBURY D.M. et WOODBURY J.W. - 1963
Correlation of Micro-electrode Potential recordings with histology of Rat and Guinea-pig thyroid glands.
J. of Physiology 169 : 553
- 387 - WYNN J. et GIBBS R. - 1962
Thyroxine degradation. II : Product of thyroxine degradation by rat liver microsomes.
J. Biol. Chem. 237 : 3499
- 388 - WYNN J., GIBBS R. et ROYSTER B. - 1962
Thyroxine degradation - I : Study of optimal condition reactions of a rat liver thyroxine degrading system.
J. Biol. Chem. 237 : 1892
- 389 - YAMADA T. et JONES A. E. - 1968
Effect of thiocyanate, perchlorate, and other anions on plasma protein-thyroid hormone interaction in vitro.
Endocrinology, 82 : 47
- 390 - YAMAZAKI E. et SLINGERLAND D.W. - 1959
The in-vitro metabolism of thyroxine, triiodothyronine, and their acetic and propionic acid analogues.
Endocrinology 64 : 126

- 391 - YAMAZAKI E., NOGUCHI A. et SLINGERLAND D.W. - 1962
Effect of thyroïdectomy on plasma butanol-extractible and protein-bound radioiodine levels and on the turnover of radiothyroxine.
J. Clin. Endoc. Metab. 21 : 336
- 392 - YIP C.C. - 1964
Column chromatographic separation of a peroxidase and an iodine in beef thyroid extracts.
Biochim. Biophys. Acta. 90 : 216

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

CHAPITRE I

Biosynthèse et métabolisme des hormones thyroïdiennes	9
--	---

CHAPITRE II

Transport sanguin des hormones thyroïdiennes	33
--	----

CHAPITRE III

Dosage de la thyroxine libre du sérum humain	61
--	----

CHAPITRE IV

Mesure des capacités de fixation des protéines vectrices des hormones thyroïdiennes	85
--	----

CHAPITRE V

Transport des hormones thyroïdiennes au cours du cycle menstruel et effet sur l'ovulation	95
--	----

RESUME ET CONCLUSIONS	111
-----------------------------	-----

BIBLIOGRAPHIE	115
---------------------	-----
